

RECHERCHES
SUR LE
FACTEUR INTRINSÈQUE
DU SUC GASTRIQUE
(Étude de 232 cas)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 29 juin 1965

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

par

Jean - Pierre NICOLAS

Attaché de Faculté - Assistant de Sciences Fondamentales

né le 21 juin 1936, à Neuves-Maisons (M.-et-M.)

Examineurs de la Thèse:

MM. R. WOLFF, *Professeur*

P. KISSEL, *Professeur*

A. LARCAN, *Professeur Agrégé Pérennisé*

P. NABET, *Maître de Conf. Agrégé*

Président

} Juges

NANCY

IMPRIMERIE GEORGES THOMAS

Angle des rues de Solignac et Henri-Lepage

1965

RECHERCHES
SUR LE
FACTEUR INTRINSÈQUE
DU SUC GASTRIQUE

(Étude de 232 cas)

RECHERCHES
SUR LE
FACTEUR INTRINSÈQUE
DU SUC GASTRIQUE
(Étude de 232 cas)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 29 juin 1965
pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

par

Jean - Pierre NICOLAS

Attaché de Faculté - Assistant de Sciences Fondamentales
né le 21 juin 1936, à Neuves-Maisons (M.-et-M.)

Examineurs de la Thèse:

MM. R. WOLFF, <i>Professeur</i>	Président	}	Juges
P. KISSEL, <i>Professeur</i>			
A. LARCAN, <i>Professeur Agrégé Pérennisé</i>			
P. NABET, <i>Maitre de Conf. Agrégé</i>			

NANCY

IMPRIMERIE GEORGES THOMAS
Angle des rues de Solignac et Henri-Lepage
1965



Doyen: M. A. BEAU

Assesseur: M. J. ROUSSEL

Doyens honoraires

MM. LUCIEN, PARISOT et P. SIMONIN

Professeurs Honoraires

MM. JEANDELIZE, SANTENOISE, CHAILLEY-BERT, HAMANT, BINET,
MUTEL, FRANCK, MELNOTTE, VERMELIN, GUILLEMIN, HOUPERT.

Professeurs

Anatomie	N...
Anatomie pathologique	M. FLORENTIN.
Chimie biologique	M. WOLFF.
Bactériologie et parasitologie	M. HELLUY.
Clinique chirurgicale A	M. CHALNOT.
Clinique chirurgicale B	M. BODART.
Clinique chirurgicale infantile	M. BEAU.
Clinique dermato-syphiligraphique	M. BEUREY.
Clinique gynécologique	M. BERTRAND.
Clinique médicale A	M. HERBEUVAL.
Clinique médicale B	M. KISSEL.
Clinique de neurologie et psychiatrie	M. ARNOULD G.
Clinique de pédiatrie et puériculture	M. NEIMANN.
Clinique obstétricale	M. HARTEMANN J.
Clinique ophtalmologique	M. THOMAS.
Clinique oto-rhino-laryngologique	M. GRIMAUD.
Clinique rhumatologique	M. LOUYOT.
Clinique stomatologique	M. GOSSEREZ.
Clinique de pneumophtisiologie	M. LAMY.
Clinique des voies urinaires	N...
Clinique de neuro-chirurgie	M. LEPOIRE.
Electro-radiologie clinique	M. ROUSSEL.
Embryologie	M. DOLLANDER.
Histologie	M. LEGATT.
Hydrologie thérapeutique et pharmacologie ...	M. LAMARCHE.
Hygiène et médecine sociale	M. SENAULT.
Médecine légale	M. HEULLY.
Médecine du travail et réadaptation	M. PIERQUIN.
Pathologie chirurgicale	M. LOCHARD.
Pathologie médicale	M. HARTEMANN P.
Physiologie	M. ARNOULD P.
Physio-pathologie respiratoire	M. SADOUL.
Physique	M. BURG.
Thérapeutique	M. FAIVRE.
Sémiologie chirurgicale	M. SOMMELET.

Professeurs à titre personnel

MM. de LAVERGNE, BREHANT, DUREUX, RAUBIER. RAUBER.

Professeurs sans chaire

MM. CORDIER, RICHON, GROSS.

Agrégés pérennisés

Médecine	M. LARCAN.
Obstétrique	M. RIBON.

Maîtres de conférences agrégés

Anatomie	M. CAYOTTE.
Carcinologie	M. CHARDOT.
Chimie	M. PAYSANT.
Chimie	M. NABET.
Hématologie	M. STREIFF.
Histologie	M. GRIGNON.
Hygiène	M. DEBRY.
Hygiène	M. FOLIGUET.
Pathologie expérimentale	M. LACOSTE.
Pharmacologie	N...
Physique	M. MARTIN.
Physiologie	M. BOULANGE.
Physiologie	M. BOUVEROT.
Physiologie	M. BOURA.
Bactériologie	M. BURDIN.
Electroradiologie	M. ANTOINE.
Electroradiologie	Mme TREHEUX.
Pédiatrie et puériculture	M. PIERSON.
Pédiatrie et puériculture	M. MANCIAUX.
Médecine	M. SCHMITT.
Neurologie et psychiatrie	M. TRIDON.
Maladies infectieuses	N...
Médecine légale	M. de REN.
Médecine et thérapeutique	M. GRILLIAT.
Médecine et thérapeutique	M. BABEAU.
Médecine et thérapeutique	M. CUNY.
Médecine et thérapeutique	M. GAUCHER.
Médecine et thérapeutique	M. GILGENKRANTZ.

Agrégés en exercice

Chirurgie	M. BENICHOUX.
Chirurgie	M. MICHON J.
Chirurgie	M. GROSDIDIER.
Chirurgie	M. PREVOT.
Chirurgie	M. VICHARD.
Chirurgie	M. FRISCH.
Médecine	M. HURIET.

Médecine légale et médecine du travail	M. PERNOT.
Neurologie et psychiatrie	M. LAXENAIRE.
Ophtalmologie	M. ALGAN.
Oto-rhino-laryngologie	M. WAYOFF.
Urologie	M. GUILLEMIN.

Agrégés libres

MM. ANDRÉ, ARNULF.

Secrétaire: M. SEUROT.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend ni les approuver, ni les improuver.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A notre Maître et Président de Thèse,

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. WOLFF

Professeur de Chimie Médicale
Chevalier de la Légion d'Honneur

*Nous avons eu l'honneur d'être son élève ;
qu'il veuille croire à notre déférente gratitude
et à notre très respectueux attachement.*

A nos Juges,

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. KISSEL

Professeur de Clinique Médicale
Chevalier de la Légion d'honneur

Que nous remercions vivement pour le très grand honneur qu'il nous fait d'accepter de faire partie de notre jury.

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. LARCAN

Professeur Agrégé pérennisé de Médecine

Nous savons l'intérêt qu'il porte aux travaux biologiques et nous lui sommes très reconnaissant d'avoir accepté de juger cette thèse.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ P. NABET

Maître de conférences
Agrégé de Chimie Médicale

Nous le remercions de l'aide qu'il nous a apportée à l'exécution de ce travail. Qu'il croie à l'affection sincère que nous lui portons et soit assuré de notre fidèle reconnaissance.

Je dédie ce travail

A MON PÈRE, LE DOCTEUR PIERRE NICOLAS, ET A MA MÈRE,

A MA FEMME ET A MON FILS JEAN-CHARLES,

A MA GRAND'MÈRE,

A MES BEAUX-PARENTS,

A TOUS LES MIENS,

A MES AMIS,

ET A LA MÉMOIRE DE MON GRAND-PÈRE,
LE DOCTEUR CHARLES NICOLAS.

SERMENT

Sur ma conscience, en présence de mes maîtres et de mes condisciples, je jure d'exercer la Médecine suivant les lois de la morale et de l'honneur, et de pratiquer scrupuleusement tous mes devoirs envers les malades, mes confrères et la société.

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS.

HISTORIQUE.

La notion de facteur intrinsèque.

PROPRIÉTÉS DU FACTEUR INTRINSÈQUE.

Répartition.

Propriétés physicochimiques.

Thermolabilité.

Poids moléculaire.

Action des enzymes.

Action de réactifs divers.

La notion de capacité de combinaison pour la vitamine B₁₂.

Purification et nature du facteur intrinsèque.

Propriétés immunologiques.

Propriétés physiologiques.

Lieu de sécrétion du facteur intrinsèque.

Mécanisme d'action.

TECHNIQUES D'ÉTUDE.

Test hématologique.

Test d'exploration in vivo.

Test du bilan fécal.

Test d'excrétion urinaire.

Test de fixation hépatique.

Epreuve d'absorption vitaminique globale.

Techniques d'étude in vitro.

L'électrophorèse.

Immunologie.

Association de l'électrophorèse et de l'immunologie.

Techniques directes in vitro.

A l'aide de broyats et de coupes.

A l'aide de l'intestin de cobaye.

Test clinique de recherche du facteur intrinsèque.

VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES ET PATHOLOGIQUES.

Le nourrisson.

L'enfant.

Le sujet âgé.

L'anémie pernicieuse.

Les anémies parabiernériennes.

Les autres anémies.

La pathologie gastrique.

gastrectomies,

les cancers de l'estomac,

les gastrites,

les hypochlorhydries et les achlorhydries,

les ulcères de l'estomac.

Variations d'activité dans quelques autres affections.

leucoses aiguës,

néoplasies non gastriques,

divers.

VUE D'ENSEMBLE SUR LA VALEUR DES RÉSULTATS OBTENUS.

CONCLUSION.

Avant - propos

Arrivé au terme de nos études médicales, qu'il nous soit permis d'exprimer toute notre gratitude envers notre Maître, M. le Professeur R. WOLFF.

Nous voudrions le remercier d'abord d'avoir bien voulu nous accepter dans son laboratoire dès les premières années de notre scolarité et de nous avoir ainsi initié aux difficultés et aux joies de la recherche médicale. Pendant ces cinq dernières années, il n'a cessé de nous guider et de nous aider dans notre travail, de ses suggestions, de ses conseils et de ses critiques, nous faisant ainsi profiter de ses hautes qualités de chercheur scientifique.

Nous désirons également le remercier de nous avoir confié la rédaction de ce travail comme sujet de thèse, et de nous faire l'honneur, aujourd'hui, de la présider.

Pour toutes les marques de sa bienveillance, pour tout ce qu'il a fait pour nous, nous le prions d'agréer notre déférente gratitude, et nous l'assurons de notre profonde reconnaissance.

Nous tenons à remercier M. le Professeur Agrégé P. NABET, pour l'aide qu'il nous a apportée, M. le Professeur Agrégé P. PAYSANT, Mme F. GENETET, Docteur en Pharmacie, Chef de Travaux à la Faculté de Médecine, et tous les membres du Laboratoire, en particulier Mlle WAGNER, pour l'atmosphère laborieuse et cordiale qu'ils ont su créer au Laboratoire de Chimie Biologique.

Nous remercions également Mlle G. KOEST, Conservateur, et toutes les personnes de la bibliothèque de la Faculté de Médecine de Nancy.

Ce travail représente l'ensemble des recherches effectuées par le Laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté de 1960 à 1965 sur les sucs gastriques normaux et pathologiques. Elles ont été résumées dans un article paru dans la Presse Médicale.

La thèse que nous présentons comporte un exposé très réduit des propriétés générales du facteur intrinsèque. Nous avons surtout décrit les méthodes de dosage, en insistant sur celles utilisées dans ces recherches. Nous indiquons d'autre part, les résultats fournis par l'étude du facteur intrinsèque en physiopathologie et en particulier dans l'anémie pernicieuse.

Les échantillons de suc gastrique provenaient de différents services hospitaliers de Paris et de Nancy. Nous prions MM. les Professeurs BOUSSER (de Paris), NEIMANN, KISSEL et HERBEUVAL et MM. les Professeurs Agrégés BILSKY-PASQUIER, F. BESANÇON (de Paris) et LARCAN, grâce auxquels ces recherches ont pu être effectuées, d'accepter nos bien vifs remerciements.

Historique

LA NOTION DE FACTEUR INTRINSEQUE

La notion de facteur intrinsèque est intimement liée à l'existence d'une entité morbide: l'anémie pernicieuse.

C'est, en effet, l'étude de cette affection qui est à l'origine de la découverte d'un principe indispensable à l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂.

Thomas ADDISON, en 1849, publia le premier une description de cette affection, puis BIERMER, en 1872, en dégagait l'autonomie. Pendant de très nombreuses années, les auteurs se cantonnèrent dans des descriptions cliniques et morphologiques. Pourtant, dès 1870, Samuel FENWICK avait attiré l'attention sur l'atteinte gastrique et l'avait désignée comme responsable de l'anémie. Bien plus, il avait déjà constaté l'aepsie en faisant macérer pendant douze heures un fragment de muqueuse fundique de Biermérien dans de l'acide chlorhydrique dilué et en montrant que cette solution, contrairement à celle préparée à l'aide de muqueuse gastrique normale, était incapable de liquéfier l'albumine coagulée du blanc d'œuf cuit dur.

En 1922, WIPPLE expérimentant sur des chiens, dont il avait abaissé de façon permanente le taux d'hémoglobine à 45 % par des saignées répétées et un régime alimentaire réduit, constata, en étudiant l'influence d'aliments divers sur la régénération sanguine, que le foie et la viande avaient une action remarquable sur la production d'hémoglobine.

MINOT et MURPHY, en 1926, tentèrent de traiter les malades atteints d'anémie pernicieuse par un régime com-

posé de foie et de viande. Ce régime comportait une dose journalière d'environ 240 g et parfois plus, de foie de bœuf et de veau (remplacé, de temps en temps, par une même quantité de rein d'agneau), de 140 g de viande de bœuf et de mouton, d'environ 300 g de végétaux frais, riches en laitues et en épinards, d'œufs et de lait, enfin de 140 g de fruits frais, pêches, abricots, fraises, oranges... Un tel régime ne représentait pas seulement l'avantage de la variété culinaire, mais il guérissait rapidement les malades. C'est ainsi que la plupart du temps l'anémie disparaissait progressivement au bout d'un mois. L'anémie pernicieuse cessait d'être une affection mortelle, elle pouvait être traitée par une thérapeutique substitutive.

Ce fut le mérite de CASTLE (1928-1929) de rattacher l'anémie de Biermer à un défaut de sécrétion par la muqueuse gastrique d'un facteur de caractère enzymatique, thermolabile, actif à pH neutre: le facteur intrinsèque. Il donna la preuve formelle du rôle apporté par ce facteur en montrant qu'un Biermérien, recevant en même temps qu'une alimentation carnée le suc gastrique d'un sujet normal, retrouvait une hématopoïèse importante, alors que dans les mêmes conditions un suc gastrique de Biermérien restait inefficace. CASTLE proposa alors sa théorie de l'interaction, selon laquelle, chez le sujet normal le facteur intrinsèque se combinait à un facteur extrinsèque d'origine alimentaire, présent dans la chair musculaire et donnait ainsi, naissance à un facteur antipernicieux qui se fixait dans le foie.

De longs et délicats travaux aboutirent en 1948 à l'isolement du facteur extrinsèque simultanément par RICKES *aux Etats-Unis* (1948) et par SMITH en Angleterre (1948) et à l'identification de cette substance à la vitamine B₁₂, facteur de croissance chez le rat, le poussin et chez certains micro-organismes. Cette découverte modifia totalement la conception de CASTLE sur le rôle du facteur intrinsèque (BERK, CASTLE et Coll.: 1948). En effet, l'administration par voie parentérale de vitamine B₁₂ à raison

de 1 microgramme par jour a une efficacité thérapeutique importante, aussi bien sur l'anémie que sur la glossite et que sur les accidents nerveux.

Le rôle du facteur intrinsèque n'était donc pas de s'unir à la vitamine B₁₂ pour donner naissance au facteur anti-pernicieux, mais de faciliter l'absorption intestinale de cette vitamine et par là, son passage dans le milieu intérieur.

Propriétés du Facteur intrinsèque

Malgré les nombreuses tentatives entreprises pour isoler le facteur intrinsèque, celui-ci n'a jamais pu être obtenu à l'état pur. Toutes nos connaissances des propriétés de ce facteur reposent donc sur l'expérimentation de substances d'activité variable et encore mal purifiées, obtenues à partir de sucs gastriques humains et d'extraits de muqueuses gastriques de porc. C'est dire que ces connaissances, sujettes à caution, sont imparfaites et parfois contradictoires.

Répartition du facteur intrinsèque

Chez l'homme, le suc gastrique ainsi que les extraits de muqueuse gastrique de la région fundique, présentent une activité en facteur intrinsèque. La région pylorique, de même que le duodénum et le reste de l'intestin ne présentent aucune activité.

Chez le porc dont le suc gastrique contient également du facteur intrinsèque, la zone de la muqueuse la plus riche est la région antro-pylorique, mais les premières portions du duodénum en contiennent également des quantités non négligeables.

Propriétés physicochimiques

THERMOLABILITÉ

CASTLE et Coll. (1937) ont montré, au moyen du test de la réponse érythrocytaire chez des sujets atteints d'ané-

mie pernicieuse en état de rechute, que l'activité hémato-poïétique du facteur intrinsèque était abolie après ébullition de cinq minutes, ou chauffage à 80° C pendant une demi-heure et même après une incubation de soixante-douze heures à 37° 5.

Ces constatations ont été confirmées par HALL et Coll. (1950.a) après la découverte de la vitamine B₁₂, ainsi que par SCHILLING (1953) et par les recherches de CALLENDER et LAJTHA (1951) sur les facteurs de maturation de la moelle mégaloblastique in vitro. M. P. NABET (1962.b) à l'aide du test à l'intestin de cobaye, a insisté sur la dissemblance que présente à l'égard de la température le suc gastrique humain qui est inactivé quel que soit le pH, et les extraits de muqueuses gastriques de porc qui seraient moins sensibles lorsque le pH est voisin de la neutralité.

D'un point de vue pratique, la thermolabilité du facteur intrinsèque pose le problème de la conservation de ce facteur. Nous verrons plus tard que, quelle que soit la température, le suc gastrique, resté acide, perd rapidement son activité par suite de l'action de la pepsine. Il importe donc, ou de neutraliser celui-ci (HALL et Coll.: 1950.a) ou mieux, de détruire la pepsine qu'il contient (GRASBECK: 1956). On peut alors conserver le suc gastrique à — 20° C. Dans ces conditions, MM. R. WOLFF et P. NABET (1962.c) n'ont pas observé de baisse d'activité après six mois.

POIDS MOLÉCULAIRE

Il est bien délicat de parler de poids moléculaire d'un produit encore imparfaitement purifié. Suivant les modes de préparation et les techniques de mesure utilisées, les auteurs attribuent au facteur intrinsèque des poids moléculaires qui varient dans des proportions considérables, allant de 5 000 à 60 000. Rappelons toutefois que le facteur intrinsèque est en général adialysable (GOLDHAMER et Coll.: 1938.b) et non ultrafiltrable (HELMER et Coll.:

1934). Cependant on a pu mettre récemment en évidence des produits dialysables doués d'activité en facteur intrinsèque (R. WOLFF et Coll.: 1965).

ACTION DES ENZYMES

En raison des possibilités multiples qu'elle pouvait offrir, afin d'aboutir à une extraction du facteur intrinsèque aussi complète que possible à partir d'extraits tissulaires, et dans le but de purifier le facteur intrinsèque lui-même, l'étude du comportement des enzymes à l'égard du facteur intrinsèque a été étudiée de façon systématique.

La pepsine détruit le facteur intrinsèque d'autant plus rapidement que le pH est plus acide, quelle que soit l'origine des extraits (CASTLE et Coll.: 1936-1937). MM. R. WOLFF et P. NABET (1962.b) ont montré, à l'aide du test de l'intestin de cobaye, que, seule, la pepsine est responsable de l'inactivation, le pH acide n'intervenant pas par lui-même mais conférant seulement à la pepsine son activité optima.

La même technique a permis de remarquer que la trypsine, qui n'a aucun effet inhibiteur sur le facteur intrinsèque (BETHELL et Coll.: 1951, BURKHOLDER: 1952, HALL et Coll.: 1950.b), semblait au contraire augmenter d'une façon importante l'activité des extraits, quand ceux-ci étaient fortement concentrés (R. WOLFF et Coll.: 1962.b). Une substance inhibitrice du facteur intrinsèque, non ultrafiltrable, présente dans les extraits, serait détruite après incubation de quelques heures de ces extraits avec de la trypsine.

La chymotrypsine abolit l'activité du facteur intrinsèque (GRASBECK: 1958.a - 1959) mais, elle n'a aucune action sur celui-ci lorsqu'il est combiné à de la vitamine B₁₂ (WILLIAMS et Coll.: 1954).

La papaïne n'a aucun effet sur le facteur intrinsèque (EVERSE et Coll.: 1953); quant à la neuraminidase, son action est variable selon la technique de mesure utilisée pour apprécier l'activité du facteur intrinsèque des ex-

traits étudiés. Le test de Schilling devient négatif après action de la neuraminidase sur les extraits de muqueuse gastrique de porc, alors que l'activité ne subit aucune modification quand celle-ci est mesurée à l'aide de l'intestin de cobaye (R. WOLFF et coll.: 1962.d). Comme nous le verrons plus loin, le test de Schilling englobe l'ensemble des étapes de l'absorption de la vitamine B₁₂ par la muqueuse intestinale, alors que le test de l'intestin de cobaye correspond aux deux premières étapes. Il semblerait donc que l'acide neuraminique n'ait pas à intervenir dans les deux premières étapes de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂, mais qu'il serait indispensable à la dernière étape de cette absorption.

ACTION DE RÉACTIFS DIVERS

Dans le but d'extraire le facteur intrinsèque, divers réactifs ont été utilisés, parmi ceux-ci, l'acétone et l'alcool, ainsi que le réactif de Lloyd et des solutions concentrées de sulfate d'ammonium. Les solutions de sulfate d'ammonium à saturation complète et à pH 4,5 précipitent totalement les substances à activité en facteur intrinsèque, aussi bien du suc gastrique humain (GOLDHAMER et Coll.: 1938.b) que des extraits de muqueuses gastriques de porc (GLASS et Coll.: 1953.b).

Le réactif de Lloyd précipite, en partie seulement, les substances actives du suc gastrique humain (HELMER et Coll.: 1937).

L'acétone à 80 % réduit l'activité du suc gastrique humain (GLASS: 1953.a) alors que l'éthanol à 70 % et à 95 %, et à la température ambiante produit une forte perte d'activité, et même une précipitation totale du facteur intrinsèque (FORMIJNE: 1940, HELMER et Coll.: 1937).

La notion de capacité de combinaison pour la vitamine B₁₂

En 1949, TERNBERG et EAKIN ont, les premiers, constaté que le suc gastrique humain, et les extraits de muqueu-

ses gastriques de porc étaient capables de fixer des quantités bien définies de vitamine B₁₂. La vitamine ainsi combinée devenait non dialysable et non ultrafiltrable; la chaleur en dénaturant le complexe libérait la vitamine, mais la copule protéique se montrait alors incapable de contracter une nouvelle combinaison avec la vitamine; enfin, la capacité de combinaison du suc gastrique dans l'anémie pernicieuse était fortement diminuée (EAKIN: 1951). Cependant, il est apparu que la capacité de combinaison n'était pas le fait exclusif du facteur intrinsèque contenu dans le suc gastrique et les extraits de muqueuses, mais que certaines matières protéiques contenues dans diverses sécrétions et liquides organiques étaient également douées d'un tel pouvoir. En effet, le sérum, les larmes, la salive, le lait, le colostrum, le liquide cérébro-spinal et l'urine sont capables de se combiner à la vitamine B₁₂ et pourtant, ces substances sont dépourvues de toute activité en facteur intrinsèque. Il est toutefois important de remarquer que, si toutes les substances susceptibles de se combiner à la vitamine B₁₂ ne présentent pas une activité en facteur intrinsèque, tous les extraits doués d'activité en facteur intrinsèque sont capables de se combiner à cette vitamine. La notion de capacité de combinaison a donc pris une grande importance dans l'étude du facteur intrinsèque, puisque sa mesure peut fournir des renseignements utiles pour apprécier l'activité en facteur intrinsèque d'un extrait; mais il faut insister sur le fait que les relations entre capacité de combinaison et activité en facteur intrinsèque apparaissent comme très complexes et sont encore mal connues.

La valeur de cette capacité n'est pas proportionnelle à l'activité en facteur intrinsèque.

PURIFICATION ET NATURE DU FACTEUR INTRINSÈQUE

Le point de départ des tentatives de purification du facteur intrinsèque, ce sont le suc gastrique et les extraits

de muqueuse gastrique de porc. Le but de ces essais est d'aboutir à un corps aussi pur que possible, présentant donc une activité maximale. C'est pourquoi l'état de pureté des extraits est apprécié au cours des différentes étapes de la concentration par des méthodes qui mesurent de façon indiscutable l'activité en facteur intrinsèque. On est limité dans le choix des méthodes de purification à utiliser; en effet, comme c'est toujours le cas en chimie biologique, les techniques ne doivent pas être agressives et doivent respecter l'intégrité de la molécule active. Ces techniques sont classiques et elles se perfectionnent chaque jour. Citons les méthodes de digestion enzymatique, les méthodes de relargage au sulfate d'ammonium, de précipitation par l'alcool à froid ou de précipitation à pH isoélectrique, d'électrophorèse de zone, d'ultra-centrifugation, et toutes les techniques récentes de chromatographie.

Voyons successivement les résultats obtenus en partant de suc gastrique humain et d'extraits de muqueuse gastrique de porc.

Suc gastrique humain

Les premières tentatives (HELMER et Coll.: 1963) consistaient à concentrer le facteur intrinsèque par ultrafiltration, puis par précipitation avec de la caséine, du phosphate tricalcique (HELMER et Coll.: 1937) ou du réactif de Lloyd.

Un fractionnement plus poussé a été obtenu à l'aide de solutions de sulfate d'ammonium, à des degrés de saturation variables (HELMER et Coll.: 1937; GOLDHAMER et Coll.: 1938.b).

En 1953, LATNER et Coll. furent les premiers à employer l'électrophorèse sur papier en tampon phosphate; deux fractions actives, toutes deux douées d'une capacité de combinaison importante furent alors isolées. RICHMOND et Coll. en 1965 utilisèrent la chromatographie sur colonne échangeuse d'ions et, cette technique fut étendue

par WELSH et Coll. (1962, 1963) à l'étude du fractionnement du suc gastrique combiné à de la vitamine B₁₂ radioactive.

En 1957, GLASS et Coll. b, à l'aide de l'électrophorèse sur papier en tampon borate ou acétate, ont obtenu plusieurs fractions, dont certaines, testées à l'aide de l'épreuve de fixation hépatique chez des sujets atteints d'anémie pernicieuse, se sont révélées actives.

Les travaux les plus récents sont dus à GRASBECK et Coll. (1962) et à CHOSY et SCHILLING (1962, 1963). GRASBECK a obtenu un produit à une unité N. F. (New Formulary reference standard) pour 10 microgrammes d'azote, en soumettant du suc gastrique à trois chromatographies successives, sur carboxyméthylcellulose, sur DEAE-cellulose et sur DEAE-Séphadex G — 200.

Quant à CHOSY et SCHILLING, ils ont employé la chromatographie sur colonne d'amberlite C G 50, sur colonne de DEAE-cellulose et sur colonne de Séphadex G 75 et ont obtenu un produit actif à 10 microgrammes d'azote également.

Auteur et Année	Dose journalière active (en mg)
—	—
GLASS et Coll. 1951, 1952	50 - 150
GLASS et Coll. 1957 (b)	2,2
WELSH 1962	1,2
GRASBECK et Coll. 1962	< 0,1
CHOSY et SCHILLING 1963	< 0,1

Activité en facteur intrinsèque de quelques produits purifiés obtenus à partir du suc gastrique (d'après R. WOLFF: 1964).

Extraits de muqueuse gastrique de porc

Les techniques utilisées pour purifier les extraits de muqueuse gastrique de porc sont identiques à celles qui sont employées pour l'enrichissement en facteur intrinsèque à partir du suc gastrique humain. Cependant, les recherches

sont beaucoup plus nombreuses dans le cas des extraits de muqueuse de porc en raison de l'importance prise par cette étude dans l'industrie pharmaceutique.

GOLDHAMMER et KYER (1938.b), puis BETHELL et Coll. (1949, 1952), BURKHOLDER (1952) et PRUSOFF et Coll. (1953) ont utilisé la précipitation au sulfate d'ammonium à divers degrés de saturation et l'acétate de zinc en solution alcoolique. Ils ont ainsi obtenu une activité du produit trois mille fois supérieure à celle du produit initial.

LATNER et Coll. (1954.a-b) ont employé de nombreux procédés de purification : l'électrophorèse en tampon phosphate, la dialyse suivie de précipitation des impuretés à pH acide ou de précipitation alcoolique à froid (1956, 1957), la chromatographie d'élution sur colonne d'amberlite. Il obtient ainsi une mucoprotéine active à 0,5 mg.

A l'aide de combinaisons de méthodes de digestion enzymatique, de fractionnement au sulfate d'ammonium et d'ultrafiltration, WILLIAMS et ELLENBOGEN ont isolé un polypeptide actif à 0,3 mg (1954-1957), (ELLENBOGEN et WILLIAMS: 1960).

Le caractère commun des tentatives de purification les plus récentes est qu'elles ont été effectuées sur du facteur intrinsèque combiné à de la vitamine B₁₂; cette vitamine semblerait en effet conférer une plus grande stabilité au facteur intrinsèque.

HOLDSWORTH (1961), en soumettant à une absorption par un dérivé de Séphadex un complexe commercial combiné à de la vitamine B₁₂ marquée, puis en soumettant le produit après élution à une chromatographie sur colonne de DEAE-Séphadex, isole une fraction active à 0,5 mg.

Quant au produit le plus pur, il semble être obtenu par BROMER et DAVISSON (1961, 1962) qui ont utilisé des méthodes de digestion enzymatique, de chromatographie sur amberlite puis, sur gel de phosphate de chaux, d'ultra-centrifugation. Ce produit est actif à 0,4 mg. Cependant,

Auteurs et Dates	Techniques employées	Dose minimale (mg)	Activité Tech. de dosage	Cap. de comb.	Poids moléculaire
LATNER & Coll. 1956	Chromatographie sur colonne d'amberlite XE 64. Précipitation par sulfate d'ammonium, ultrafiltration et précipitation par l'éthanol à froid.	0,5	Test d'excrétion fécale	0,8	15000 - 16000 ou 7500 - 16000
JACOB & Coll. 1959	Précipitation fractionnée par le sulfate d'ammonium suivie d'ultracentrifugation	0,4 à 0,6	Test d'excrétion urinaire + hématologie	0,67	50000 - 100000
RHODES & Coll. 1959	Chromatographie sur colonne de carboxyméthylcellulose.	0,55 à 1,2	Test d'excrétion urinaire		
HEATLEY & Coll. 1960	Chromatographie sur colonne d'amberlite XE-64	0,3 à 0,75	Test d'excrétion fécale		
HOLDSWORTH 1961	Chromatographie sur D.E.A.E. et carboxyméthylcellulose.	0,5	Test d'excrétion fécale	17,8	>55000
ELLENBOGEN & WILLIAMS 1960	Précipitation par sulfate d'ammonium suivie de chromatographie sur D.E.A.E. cellulose et d'ultrafiltration.	0,3	Test d'excrétion urinaire	3,0	5000 - 10000
BROMER & DAVISSON 1961	Digestion pancréatique, chromatographie sur amberlite XE-64 et sur gel de phosphate de chaux, combinaison à la vitamine B 12, ultra-centrifugation fractionnée et électrophorèse	< 0,1	Test d'excrétion urinaire + hématologie	25,0	53000 ou plus

* Cap. de Comb. = Capacité de combinaison µg/mg.

l'obtention de ce produit ne permet pas de considérer la purification comme acquise.

Il n'existe donc encore aucune certitude quant à la composition chimique du facteur intrinsèque; cependant, tous les auteurs sont d'accord pour le considérer soit comme une mucoprotéine, soit comme un mucopolypeptide. Les auteurs ont pu déceler dans les produits d'hydrolyse totale des préparations très purifiées, des acides sialiques, des hexosamines, du fucose, du galactose, du mannose, de la tyrosine et du tryptophane, mais dans des proportions différentes.

Il semble que l'idée de considérer l'activité en facteur intrinsèque comme appartenant à un seul corps, idée qui a conduit les différents auteurs à apprécier l'état de pureté des extraits en mesurant l'évolution de la capacité de combinaison, la composition en glucides, en acides aminés, et enfin en mesurant le poids moléculaire et la mobilité électrophorétique, ait abouti à un échec (R. WOLFF: 1964).

Cette hétérogénéité du facteur intrinsèque apparaît déjà dans l'étude de ses propriétés. Suivant l'origine de l'extrait, la thermolabilité varie considérablement, ainsi que l'action des enzymes. Enfin, l'origine du facteur intrinsèque est différente chez l'homme, où il est sécrété par la muqueuse fundique et chez le porc, où il est sécrété par la muqueuse antro-pylorique et l'intestin grêle.

Il existe, sans aucun doute, une multiplicité de dérivés doués d'activité en facteur intrinsèque et c'est cette multiplicité qui explique les résultats variables obtenus par les auteurs.

PROPRIÉTÉS IMMUNOLOGIQUES DU FACTEUR INTRINSÈQUE

La découverte des propriétés immunologiques du facteur intrinsèque est récente, puisque c'est en 1958 que TAYLOR et MORTON ont produit les premiers un immun-sérum chez le lapin par des injections répétées de suc gastrique ou d'extraits de muqueuse gastrique de porc en pré-

sence d'adjuvant de Freund. Cet immunsérum est capable de neutraliser spécifiquement l'effet d'un suc gastrique ou d'un extrait de muqueuse de porc donné à un Biermérien et de rendre le test de Schilling négatif. Cet effet neutralisant de l'immunsérum de lapin à l'égard du suc gastrique a été également observé par M. R. WOLFF et Coll. (1961.c) à l'aide du test d'activité en facteur intrinsèque du segment intestinal du cobaye.

On a décrit d'autre part (SCHWARTZ: 1958, KILLANDER: 1958, BERLIN et Coll.: 1958.a-b) des états réfractaires aux extraits de muqueuse de porc chez des sujets atteints d'anémie pernicieuse et traités pendant de longs mois par ces médications. Dès que les extraits de porc étaient remplacés par du suc gastrique humain normal, ces états réfractaires disparaissaient; ils ne survenaient jamais chez les sujets traités par injections de vitamine B₁₂. SCHWARTZ et Coll. ont tenté d'expliquer ce phénomène par la production d'anticorps circulants. En effet, on a découvert chez des Biermériens traités la présence d'anticorps circulants neutralisant l'effet du suc gastrique et d'extraits de muqueuse gastrique; mais on a décrit également de tels anticorps circulants dans le sérum de Biermériens non traités. Cette production d'anticorps circulants serait donc totalement indépendante de l'état réfractaire du sujet.

TAYLOR a observé récemment (1962) dans 86 % des sérums de Biermériens, un anticorps fixant le complément et se combinant à un antigène situé dans le cytoplasme cellulaire de la partie fundique de la muqueuse gastrique. Il est possible que ces anticorps soient à l'origine de l'atrophie gastrique observée dans la période inaugurale de l'anémie pernicieuse.

Enfin, comme nous le verrons plus loin, P. NABET (1962.c), au laboratoire de M. WOLFF, a rencontré dans le suc gastrique de certains Biermériens des anticorps capables de neutraliser la fixation de la vitamine B₁₂ « facteur intrinsèque indépendante » sur le segment retourné d'iléon de cobaye.

Les propriétés immunologiques du facteur intrinsèque semblent multiples puisqu'elles peuvent donner cinq types de réactions d'immunité.

- production d'anticorps chez le lapin,
- présence d'anticorps circulants chez certains Biermériens,
- présence dans le suc gastrique de certains Biermériens, d'anticorps anti-facteur intrinsèque,
- production d'un état réfractaire,
- réaction d'immunité entre certains sérums de Biermériens et certains constituants muco-polysaccharidiques des cellules de la muqueuse gastrique.

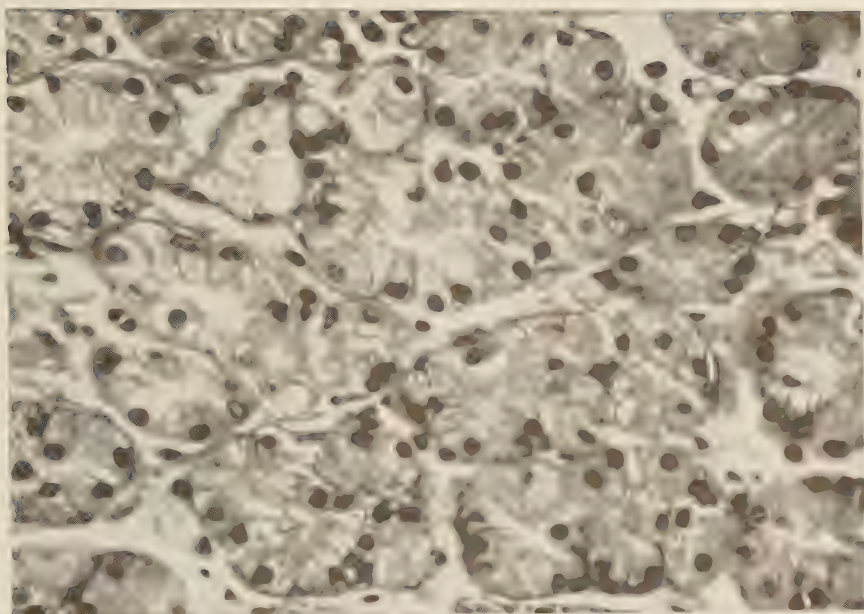
Il paraît certain que l'étude des propriétés immunologiques va prendre une place importante dans les recherches entreprises sur le facteur intrinsèque et qu'elles permettront peut-être de mieux comprendre les mécanismes de la pathologie de ce facteur.

Propriétés physiologiques

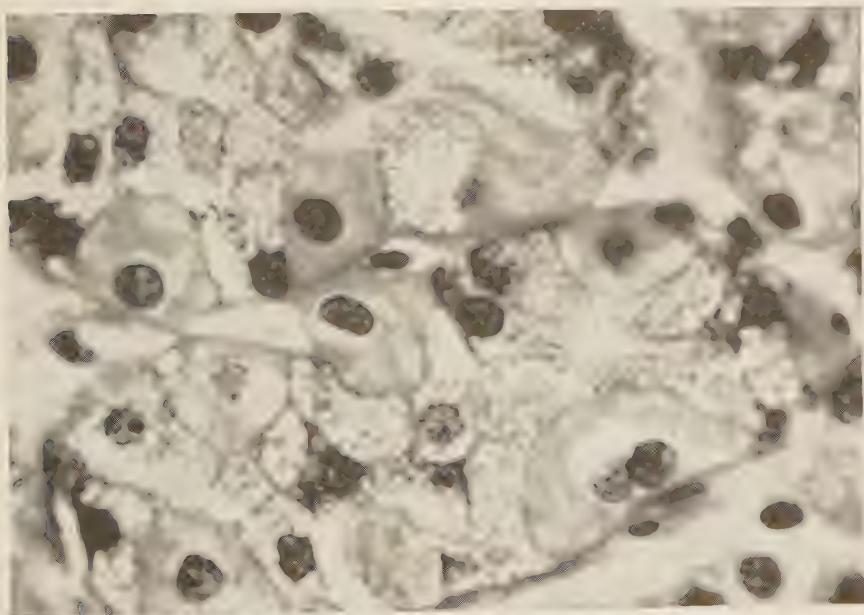
Nous étudierons brièvement dans ce paragraphe, successivement le lieu de sécrétion du facteur intrinsèque et les diverses théories émises pour expliquer le mode d'action de ce facteur.

LIEU DE SÉCRÉTION DU FACTEUR INTRINSÈQUE

Dès 1938, MAGNUS et UNGLEY, en étudiant à l'autopsie l'estomac de sujets atteints d'anémie pernicieuse constataient que dans cette affection l'épithélium glandulaire de la région fundique présentait une atrophie importante. En 1942, FOX et CASTLE montrèrent que chez l'homme l'épithélium glandulaire de la région fundique était responsable de la sécrétion du facteur intrinsèque. Ces constatations ont été confirmées par LANDBOE-CHRISTENSEN et PLUM en 1948 et WRUBLE et Coll. en 1964.

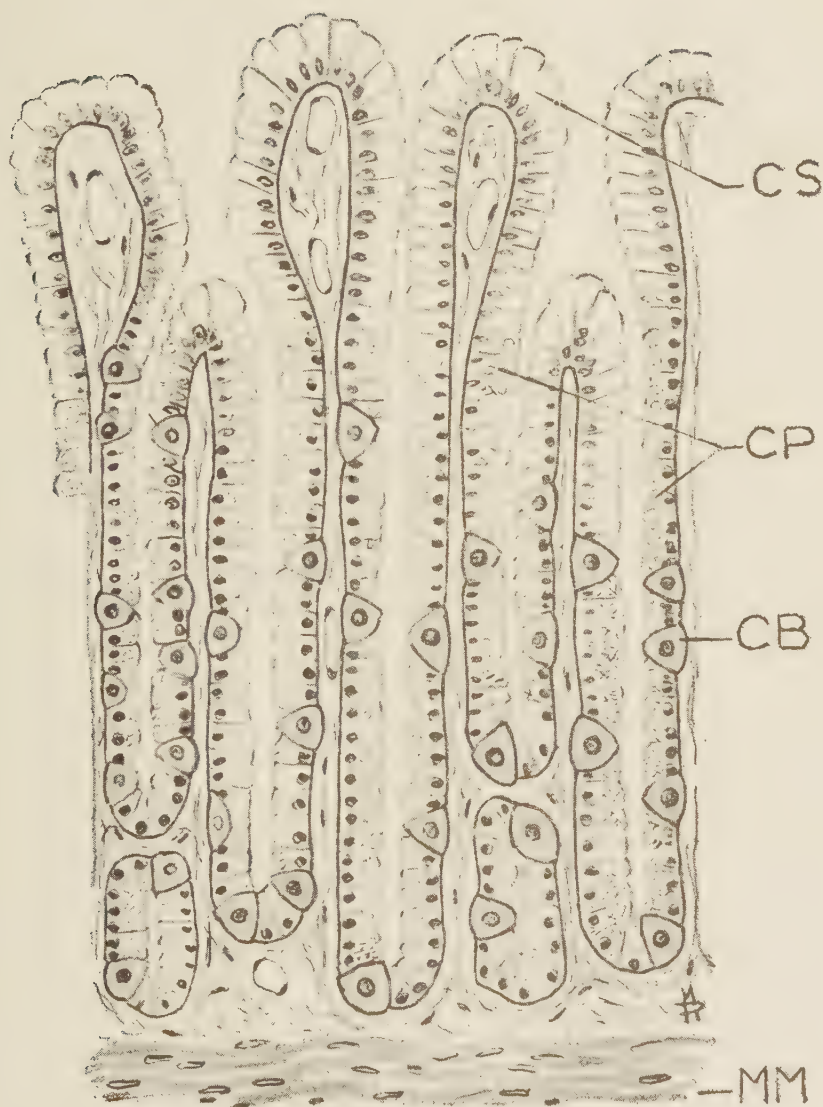


Mucine nasale postérieure (Gr. $\times 600$).



Détail des tubes glandulaires (Gr. $\times 1250$).

Documents aimablement mis à notre disposition
par le laboratoire d'Anatomie Pathologique de la Faculté.



Muqueuse gastrique normale.

CS: Cellules de l'épithélium superficiel.

CP: Cellules principales.

CB: Cellules bordantes.

Rappelons que la muqueuse stomacale se compose d'une couche épithéliale, d'une couche glandulaire et d'un chorrion au sein duquel se développe une quantité considérable de fibres musculaires lisses. L'épithélium tapisse la surface de la muqueuse et se continue dans la cavité des orifices glandulaires jusqu'en un point rétréci séparant la partie sécrétante du canal excréteur : le collet de la glande. Selon les régions, on reconnaît trois types de glandes : les glandes du cardia, les glandes du pylore et les glandes de la région fundique. Seules, ces dernières nous intéressent ici. Les glandes de la région fundique sont constituées de trois types de cellules :

— *Les cellules muqueuses du collet* qui sont des cellules cubiques qui diffèrent des cellules de la couche épithéliale par leur faible basophilie cytoplasmique et leur colorabilité peu intense à l'éosine et à l'hématoxyline. On pense qu'elles sont responsables de la régénération des éléments spécifiques de la muqueuse fundique (HUNT et Coll. : 1962, TOWNSEND : 1961).

— *Les cellules bordantes* de taille plus légèrement importante et de forme triangulaire ou ovale présentant un cytoplasme éosinophile ; elles sont la source de la sécrétion chlorhydrique (KOUNICK : 1963).

— *Les cellules principales* enfin, que l'on rencontre à la partie basale du tubule. Ce sont des cellules cubiques à cytoplasme basophile dans lequel on rencontre un appareil de Golgi et des grains de sécrétion. On pense, en général, que ces cellules sécrètent le pepsinogène.

HOEDEMAEKER a récemment recherché (1965) la localisation cellulaire de la sécrétion du facteur intrinsèque chez l'homme à l'aide d'autohistoradiographies de coupes cryostates d'estomac, incubées avec de la vitamine B₁₂ radioactive. Les muqueuses gastriques humaines ont été recueillies après gastrectomies partielles de type Billroth II. Cet auteur a constaté qu'une liaison spécifique de la vitamine B₁₂ était retrouvée dans le cytoplasme des cel-

lules bordantes de l'homme. Les cellules bordantes seraient donc responsables chez l'homme de la sécrétion du facteur intrinsèque; il est intéressant de remarquer que les cellules bordantes sécrètent également l'acide chlorhydrique; en effet, la plupart des Biermériens présentent, en plus d'un défaut de sécrétion de facteur intrinsèque, une achlorhydrie.

MÉCANISME D'ACTION DU FACTEUR INTRINSÈQUE

Si tous les auteurs sont d'accord pour admettre que le rôle du facteur intrinsèque est de faciliter l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ au niveau de l'iléon, l'unanimité n'est pas faite en ce qui concerne les théories énonçant son mécanisme d'action.

Ne mentionnons que pour mémoire la conception initiale de CASTLE (1929.a): l'anémie pernicieuse serait la conséquence d'une digestion protéolytique insuffisante,

En 1958, cette théorie tombée dans l'oubli fut reprise par HEATHCOTE et MOONEY (1962) qui nièrent l'existence du facteur intrinsèque et supposèrent que la vitamine B₁₂ alimentaire, présente sous forme d'une combinaison protéique, était inassimilable; la vitamine ne pouvait être absorbée qu'après transformation de la copule protidique en un polypeptique et ceci, sous l'influence d'un enzyme hypothétique, appelé par ces auteurs cobalamase.

La théorie de CASTLE de l'interaction facteur intrinsèque-facteur extrinsèque pour donner le facteur antipernicieux fut abandonnée à la suite de la découverte de la vitamine B₁₂ et de la démonstration faite par CASTLE de l'identité chimique vitamine B₁₂ et facteur extrinsèque.

Au moment de la découverte de la capacité de combinaison du facteur intrinsèque, BURKHOLDER (1952) et HOFF-JÜRGENSEN (1952) pensèrent que le rôle de ce facteur consistait uniquement, en se combinant à la vitamine B₁₂, à protéger la vitamine contre les attaques microbiennes.

M. R. WOLFF (1955.c) a également montré à cette époque que la vitamine B₁₂, sensible aux attaques chimiques,

comme celle que lui faisait subir la cystéine, devenait résistante lorsqu'elle était sous forme combinée.

En 1957, GLASS et Coll. (1957.b, 1959) énonçaient que le facteur intrinsèque se combinait dans des proportions très variables avec des mucoprotéines douées elles-mêmes de capacité de combinaison, et que ce complexe fixait la vitamine, permettant ainsi son absorption par la muqueuse intestinale.

En 1959 (b), HERBERT proposait sa théorie de la bipolarité du facteur intrinsèque, selon laquelle le facteur intrinsèque s'ancrait d'une part sur les récepteurs de la surface cellulaire et fixait d'autre part la vitamine B₁₂. Le facteur intrinsèque se comporterait comme un « ambocepteur » et posséderait deux pôles d'attraction: l'un pour la vitamine B₁₂ et l'autre pour les récepteurs intestinaux. Il fixerait aussi le calcium qui renforcerait ainsi la liaison récepteur-facteur intrinsèque grâce à sa bivalence. En effet, l'administration d'un complexe chélateur des ions Ca⁺⁺ inhibe l'action du facteur intrinsèque.

M. R. WOLFF proposa en 1957 avec Mme WEISS (J. VUILLEMIN-WEISS: 1957, R. WOLFF et Coll.: 1960) une théorie qui reposait sur l'étude cinétique de la fixation de la vitamine B₁₂: au cours d'une première phase immédiate et transitoire, indépendante du facteur intrinsèque, on remarque une rétention intestinale importante de vitamine, sans répercussion hépatique; cette rétention existe aussi bien chez des rats normaux que chez des rats gastrectomisés. Pendant la seconde phase, la rétention intestinale diminue progressivement chez les rats normaux et la fixation hépatique de vitamine augmente. Chez les rats gastrectomisés, la rétention intestinale est nulle ainsi que la fixation hépatique. L'administration de facteur intrinsèque à ces rats gastrectomisés normalise les fixations intestinale et hépatique. Il en résulte que le facteur intrinsèque est indispensable au maintien et au transfert de la vitamine absorbée sur la paroi intestinale.

HOLDSWORTH et COATES (1957, 1960) en travaillant également sur le rat sont arrivés à des conclusions sem-

blables, de même que REIZENSTEIN et Coll. (1962.b) à l'aide de mesures de la fixation de la vitamine B₁₂ au compteur à scintillations sur l'organisme humain entier.

Après ce rapide examen des théories qui tentèrent d'expliquer le mécanisme d'action du facteur intrinsèque, il nous semble utile d'exposer l'état actuel de nos connaissances au sujet des différentes étapes de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂.

Etat actuel de nos connaissances

S'il est indiscutable que le facteur intrinsèque a une action déterminante pour favoriser le passage de la vitamine B₁₂ dans le milieu intérieur, il ne reste pas moins vrai que son action ne demeure pas indispensable. Il existe en effet une absorption indépendante du facteur intrinsèque.

Cette absorption, indépendante du facteur intrinsèque n'apparaît qu'avec de fortes doses de vitamine B₁₂; elle n'atteint qu'un pour cent de la dose administrée et suit les lois de la diffusion. Alors que l'absorption sous la dépendance du facteur intrinsèque demande un délai d'environ quatre heures, celle-ci est quasi instantanée. Le lieu de passage ne semble pas être la cellule elle-même, mais plutôt les canalicules intercellulaires et lymphatiques.

Le mécanisme physiologique de l'absorption de la vitamine B₁₂ est cependant tributaire du facteur intrinsèque. La première étape de ce mécanisme consiste en une combinaison entre la vitamine et le facteur intrinsèque dans l'estomac. Le complexe ainsi formé se fixerait à la surface cellulaire; cette étape serait sous la dépendance du calcium et, d'une manière plus générale, des ions métalliques bivalents (HERBERT: 1958.a).

Le complexe passerait alors à l'intérieur de la cellule (OKUDA: 1962). Ici aussi, la réaction reste sous la dépendance des ions calciques (LATNER: 1958) mais également de l'oxygène (STRAUSS: 1958, 1960); la surface cellulaire libérée du complexe facteur intrinsèque-vitamine B₁₂ peut

à nouveau jouer son rôle. C'est ainsi que la muqueuse intestinale vivante a une faculté d'absorption bien supérieure à l'absorption physique observée sur une muqueuse lyophilisée ou broyée.

Le passage à l'intérieur de la cellule se ferait par vésiculation (pinocytose) (ABELS: 1963.a); l'accepteur intestinal serait une protéine présente à l'état distendu sur la surface cellulaire; en fixant le complexe facteur intrinsèque-vitamine B₁₂, elle donnerait naissance en se « recroquevillant » à une vésicule qui pénétrerait dans l'intérieur de la cellule. Là, le complexe facteur intrinsèque-vitamine B₁₂ serait alors dissocié.

La vitamine B₁₂ libérée est immédiatement prise en charge dans le sang par les protides doués de capacité de combinaison et c'est sous forme combinée qu'elle passe par la veine porte pour être transportée vers les organes.

La décomposition du complexe facteur intrinsèque-vitamine B₁₂ est sous la dépendance d'un enzyme: le « releasing factor ». L'existence de cet enzyme dans les tissus est démontrée par de nombreux travaux (COOPER et Coll.: 1962, DOSCHERHOLMEN: 1962, NYBERG: 1961, HERBERT: 1960.a, ELLENBOGEN: 1963). La nature enzymatique de cette substance ne laisse aucun doute et elle joue certainement un grand rôle dans le transfert intra-cellulaire de la vitamine B₁₂. Elle serait douée d'une spécificité d'espèce, et provoquerait, comme l'ont montré MM. NYBERG, R. WOLFF et P. NABET (1962.b) chez le botriocéphale, la dénaturation du facteur intrinsèque, le rendant dès lors incapable de fixer à nouveau la vitamine B₁₂.

Tous les problèmes posés par l'étude du facteur intrinsèque sont loin d'être résolus. Il semble bien que l'approfondissement de nos connaissances fasse apparaître de plus en plus la complexité des mécanismes responsables du franchissement de la barrière intestinale par cette volumineuse molécule qu'est la vitamine B₁₂.

Cependant, des problèmes pratiques se posent au médecin, en face d'affections dans lesquelles le facteur intrin-

sèque joue un rôle prépondérant. C'est pourquoi, dès 1935, les auteurs ont tenté de rechercher le facteur intrinsèque à l'aide de moyens et d'épreuves de plus en plus détournés.

Nous allons, dans le prochain chapitre, exposer ces techniques de recherche du facteur intrinsèque.

Techniques d'Étude

Test hématologique

Pendant 20 ans, depuis les travaux de CASTLE et Coll. (1929.b), la seule méthode d'étude du facteur intrinsèque reposait sur l'amélioration de la formule sanguine sous l'influence d'extraits de muqueuse gastrique de porc mélangés à de la chair musculaire, de sujets atteints d'anémie pernicieuse et en état de rechute.

Cette amélioration s'annonce par une crise réticulocytaire caractérisée par une augmentation brutale du nombre des réticulocytes dans le sang, suivie d'une chute aussi rapide de ces cellules.

La méthode codifiée par MINOT et CASTLE (1935) a été utilisée, conformément à la Pharmacopée des Etats-Unis en vigueur jusqu'en 1956 (United States Pharmacopoeia: 1948) pour la standardisation des extraits de muqueuse gastrique et leur vente.

Cette technique complexe s'étendait sur une période de quarante à quarante-cinq jours pendant lesquels on dosait fréquemment le taux des hématies et des réticulocytes, et la valeur de l'hémoglobine. Elle faisait courir un risque au malade: celui-ci, qui devait présenter une anémie inférieure à 3 millions de globules rouges par mm^3 , subissait un essai préliminaire de contrôle pendant une dizaine de jours et ne recevait alors aucun traitement. C'est pourquoi, de nombreux auteurs se sont attachés, pendant cette même période, à substituer pour ce dosage l'animal à l'homme et à transférer cette technique de l'hôpital au laboratoire.

Des études ont été entreprises chez un grand nombre d'animaux (chien, lapin, rat, porc, cobaye, pigeon, poisson) pour tenter de retrouver cette crise réticulocytaire dans le cadre d'anémies expérimentales.

La découverte de la vitamine B₁₂ (RICKES et Coll. : 1948, SMITH : 1948), la démonstration faite par CASTLE (Editorial : 1958) que le facteur extrinsèque et le facteur anti-pernicieux se confondaient en un seul qui n'était autre que cette vitamine, et la nouvelle définition par ce même auteur, du facteur intrinsèque comme élément favorisant l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂, vinrent jeter un jour nouveau sur ces études.

Des techniques microbiologiques très sensibles de dosage de la vitamine B₁₂ furent mises au point, et il devint alors possible de suivre avec précision les fluctuations du taux de vitamine B₁₂ des différents milieux biologiques (ROSENTHAL et Coll. : 1952, MOLLIN : 1952, R. WOLFF et Coll. : 1953-1955).

C'est ainsi que HEINRICH et Coll. (1953) constatèrent qu'on retrouvait après administration orale de 30 microgrammes de vitamine B₁₂ et une petite quantité de vitamine dans l'urine des sujets normaux, alors qu'on n'en retrouvait pas chez les Biermériens. Par contre, la vitamine apparaissait dans les urines de Biermériens lorsque ceux-ci recevaient en même temps que la vitamine, des extraits de muqueuse gastrique de porc (HEINRICH : 1956).

CHOW et Coll. (1958, 1959, 1962) remarquèrent que l'administration quotidienne de vitamine B₁₂ pendant un mois, s'accompagnait d'une élévation du taux de cette vitamine dans le sérum chez le sujet normal. Chez le Biermérien, cette augmentation n'apparaissait que lorsque la vitamine était administrée en présence de facteur intrinsèque.

De telles épreuves permettent de déceler l'absence de facteur intrinsèque chez certains anémiques, mais elles sont fastidieuses et délicates : elles constituent plus une thérapeutique qu'un test.

En 1950, la mise sur le marché de vitamine B₁₂ marquée au cobalt 60 (CHAÏET et Coll.: 1950) suivie des vitamines marquées au cobalt 56 et 58 (BRADLEY et Coll.: 1954) et enfin 57 (ROSENBLUM: 1960) facilita considérablement l'étude de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ et permit de mettre au point de très nombreuses techniques destinées à démontrer l'absence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique. Toutes ces techniques reposent sur le même principe: on donne oralement une certaine quantité de vitamine radioactive à un sujet et l'on mesure le pourcentage de radioactivité fixée par ce sujet. Ce pourcentage peut également être obtenu indirectement par différence entre la radioactivité totale absorbée par le malade et la radioactivité des milieux d'excrétion. Etudions brièvement quelques-unes de ces épreuves d'explorations indirectes de l'activité du facteur intrinsèque in vivo.

Les tests d'exploration de l'activité en facteur intrinsèque in vivo

EPREUVE DU BILAN FÉCAL (F.E.T.: Fecal excretion test)

Cette épreuve a été décrite en 1952 par HEINLE et Coll. Elle consiste à faire ingérer une quantité connue de vitamine B₁₂ radioactive à un sujet, puis à recueillir ses matières fécales jusqu'à ce que celles-ci perdent toute trace de radioactivité (de six à douze jours environ). La quantité de vitamine B₁₂ absorbée par le patient est donnée par différence entre la radioactivité totale de la substance ingérée, et la radioactivité des matières fécales.

Le principe de cette technique repose sur trois hypothèses:

D'une part, la radioactivité des matières fécales a bien pour origine la vitamine B₁₂ et non des atomes de cobalt détachés de cette vitamine.

D'autre part, la vitamine qui passe dans les matières fécales est bien la vitamine non absorbée.

Et enfin, la différence entre la radioactivité ingérée et la radioactivité des fèces représente la radioactivité de la vitamine absorbée.

Les deux dernières de ces hypothèses se sont révélées être fausses. En effet, la découverte d'un cycle entéro-hépatique par GRASBECK (1958.b), OKUDA (1958) et REIZENSTEIN (1959.a-b) introduisit une nouvelle variable inconnue dans le bilan fécal. Le résultat obtenu ne représentait pas exactement la valeur de la vitamine absorbée. Toutefois, cette technique a permis une évaluation semi-quantitative de l'absorption intestinale de vitamine B₁₂. Elle a présenté l'avantage considérable d'étudier l'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique de malades traités, en état de rémission, et auxquels elle ne faisait courir aucun risque.

On peut cependant lui reprocher son caractère semi-quantitatif, sa reproductibilité inconstante, ses difficultés d'interprétation. (En effet, les résultats normaux sont très dispersés, et la limite entre les valeurs normales et les valeurs pathologiques est très difficilement appréciable), enfin, la difficulté de récolter la totalité des matières fécales et de mesurer leur radioactivité.

TEST D'EXCRÉTION URINAIRE (U.E.T.: Urinary excretion test)

Cette méthode proposée en 1953 par SCHILLING repose sur la constatation que la vitamine B₁₂ radioactive absorbée par voie orale ne passe pas dans les urines en très grande quantité, mais que lorsqu'elle est entraînée par de la vitamine ordinaire injectée à dose massive, on la retrouve rapidement à forte dose dans les urines. Ceci, à condition que la vitamine B₁₂ marquée ait été absorbée par la muqueuse intestinale, c'est-à-dire chez le sujet normal.

Dans la réalisation pratique de cette technique, de nombreuses modifications ont été proposées; elles portaient sur

la quantité de vitamine radioactive à administrer, sur l'intervalle de temps séparant l'ingestion et l'injection de vitamine, sur la dose à injecter, sur la durée de la récolte des urines, et enfin sur la technique de mesure de la radioactivité urinaire. Une standardisation de ce test a été mise à jour au VII^e Congrès scandinave de chimie clinique et physiologie clinique à Elsinore en 1959.

Devenue la méthode officielle aux Etats-Unis pour le dosage du facteur intrinsèque dans les poudres et extraits d'estomac, elle a été codifiée et décrite en détail dans le National Formulary (11^e Edition, First interim revision announcement 1960).

On choisit les malades atteints d'anémie pernicieuse et se trouvant dans un état de santé satisfaisant. Le sujet à jeun depuis douze heures et n'ayant pas reçu les jours précédents de substances susceptibles de perturber le test (Facteur intrinsèque, sorbitol, antibiotiques, extraits hormonaux thyroïdiens, calcium, corticoïdes...) reçoit oralement 1 microgramme de vitamine B₁₂ radioactive au cobalt 60 dans 200 ml d'eau distillée. Quatre-vingt-dix minutes après cette absorption, on injecte par voie intramusculaire 1 000 microgrammes de vitamine B₁₂ ordinaire. Le malade peut alors se nourrir.

Dès l'ingestion de vitamine, toutes les urines sont recueillies pendant vingt-quatre heures. Leur radioactivité est mesurée, et on exprime le résultat en pourcentage de vitamine B₁₂ dans les urines par rapport à la dose administrée. Ce test peut être répété trois jours après un premier examen.

A l'aide de cette méthode, on peut obtenir :

1^o *Une réponse basale*: C'est le pourcentage de vitamine radioactive excrétée dans l'urine d'un sujet qui ne reçoit que de la vitamine B₁₂. Chez le sujet normal, on retrouve 10 à 30 % de la dose administrée par voie orale, alors que dans la maladie de Biermer et dans tout autre syndrome de malabsorption, cette quantité atteint à peine 2 à 4 %.

2° *Une réponse standard*: on administre en même temps que la vitamine B₁₂ radioactive, une unité « étalon de référence du nouveau formulaire des Etats-Unis » de facteur intrinsèque. Dans ce cas, la réponse doit être normale chez le Biermérien.

3° *Une évaluation de l'activité en facteur intrinsèque d'une substance*: cette substance (par exemple un extrait de muqueuse gastrique de porc) est absorbée par le sujet en même temps que la vitamine. Pour être valable, ce dosage doit porter au moins sur trois sujets Biermériens.

Une importance considérable a été reconnue au test d'excrétion urinaire. La rapidité et la simplicité de son exécution, la bonne reproductibilité de ses résultats, la possibilité de l'utiliser à de nombreuses reprises chez le même malade en ont fait en clinique une méthode de choix.

Cependant, on peut lui reprocher: l'administration de produits radioactifs dont on ne connaît pas les effets lointains, et cela en particulier chez le jeune enfant et la femme enceinte (mais cet inconvénient a été minimisé par l'emploi de dérivés de la vitamine B₁₂ à cobalt 58), les difficultés rencontrées pour recueillir la totalité des urines chez les très jeunes enfants, les incontinents et les prostatiques (chez qui un sondage est nécessaire); enfin l'inexactitude des résultats chez les malades dont la fonction rénale est perturbée. Son emploi pour le dosage de l'activité en facteur intrinsèque de préparations thérapeutiques se heurte à la difficulté « d'approvisionnement » de malades atteints d'anémie pernicieuse.

TEST DE FIXATION HÉPATIQUE (H.U.T.: Hepatic uptake test)

GLASS et Coll. (1954.a-b-c) publièrent une technique qui consiste à mesurer la radioactivité de l'aire de la projection hépatique après administration de vitamine B₁₂ radioactive par voie orale. En effet, la vitamine B₁₂ une fois absorbée par l'intestin, est stockée au niveau du foie,

Cette méthode est conduite de la façon suivante: On fait absorber un certain nombre de microcuries au malade en état de rémission et n'ayant pas reçu les jours précédents de médications susceptibles de perturber le test. On purge le malade afin de débarrasser son intestin de toute trace de vitamine restée absorbée et d'éliminer ainsi toute radioactivité parasite. Deux à trois jours après administration de vitamine, puis une dizaine de jours après, on mesure le taux de radioactivité au moyen d'un compteur à scintillations pour émetteur gamma qui décrit l'aire de projection hépatique, abdominale et thoracique.

Chez le sujet normal, on retrouve de 11 à 81 % de vitamine fixée, alors que chez le Biermérien ce taux varie entre 0 et 10 %.

Ce test est très apprécié des cliniciens, car il donne de bons résultats et libère le malade de l'obligation d'une récolte minutieuse des urines de 24 heures. Ses conditions d'exécution sont relativement aisées si l'on dispose d'un compteur spécial et il peut être réalisé simultanément avec l'épreuve du bilan fécal. On lui a reproché sa durée, mais il a été modifié par GLASS et coll. (1957.a) et l'on obtient actuellement un résultat en quarante-huit heures.

On peut l'utiliser sans inconvénient chez les malades dont la fonction rénale est atteinte. Cependant, ses résultats ne sont d'aucune valeur chez les malades qui présentent une insuffisance hépatique. D'autre part, il n'est pas possible de répéter sur un même sujet cet examen sans une période de latence et son emploi est limité par l'accumulation dans le foie, d'un produit radioactif.

EPREUVE D'ABSORPTION DANS LE PLASMA

(P.A.T.: Plasma absorption test)

BOOTH et MOLLIN (1956) ainsi que DOSCHERHOLMEN et HAGEN (1956-1957) ont montré qu'on observait après administration orale de 0,5 à 1 microgramme de vitamine B₁₂ marquée au cobalt 60 ou au cobalt 58, une radioacti-

tivité plasmatique qui devenait maximale huit à douze heures après l'absorption chez le sujet normal, alors que chez le Biermérien, la radioactivité plasmatique restait pratiquement inexistante.

Malgré sa facilité et ses nombreux avantages, cette technique est assez impopulaire: elle nécessite une dose trop importante de vitamine, alors que la radioactivité des échantillons sanguins reste faible; de plus, la durée du test est longue.

Toutefois, la sensibilité a été augmentée par DOSCHER-HOLMEN et HAGEN en 1958, en injectant par voie intramusculaire 1 000 microgrammes de vitamine ordinaire six heures après l'administration orale, puis (1962.a) en utilisant de la vitamine marquée au cobalt 57.

EPREUVE D'ABSORPTION VITAMINIQUE GLOBALE (W.B.C.T.: Whole Body Counting Test)

HEINRICH et Coll. (1962) et REIZENSTEIN et Coll. (1961-1962.a) ont mis au point une technique de mesure de l'absorption intestinale totale de vitamine B₁₂.

Celle-ci consiste à administrer par voie buccale à un patient de la vitamine marquée, puis à mesurer la radioactivité de l'organisme entier dans une chambre de comptage une semaine après.

REIZENSTEIN pratique simultanément à l'aide de deux traceurs un double dosage. Le malade reçoit 0,1 microcurie de vitamine B₁₂ marquée au cobalt 58, puis il reçoit à nouveau la même quantité de vitamine, mais cette fois marquée au cobalt 60 et ayant séjourné pendant une heure avec 50 mg de facteur intrinsèque. On procède alors à une première mesure de radioactivité, celle-ci correspondant à la totalité de vitamine ingérée. On laisse s'écouler une dizaine de jours pendant lesquels le sujet peut retourner chez lui et on réalise une seconde mesure.

En comptant les courbes d'absorption des deux iostopes, il est possible de déterminer les proportions de vitamine

B₁₂ au cobalt 58 (vitamine absorbée libre) et de vitamine au cobalt 60 (vitamine absorbée combinée au Facteur intrinsèque).

Chez le sujet normal, on retrouve de 30 à 80 % de vitamine au cobalt 58 et 15,3 % d'isotope à cobalt 60. On peut, de cette façon, distinguer les carences en vitamine B₁₂ dues à l'absence de sécrétion de facteur intrinsèque des syndromes de malabsorption intestinale.

La distinction rapide entre ces deux étiologies n'est pas la seule qualité de cette épreuve; elle a également bien d'autres avantages sur les autres méthodes: elle ne nécessite aucune hospitalisation du malade, ne met en jeu que de très faibles doses de radioactivité mesurées directement sur l'organisme avec une très haute sensibilité. Enfin, elle peut être utilisée chez tous les malades, les syndromes rénaux et hépatiques n'échappant pas à ses investigations. C'est donc une excellente épreuve clinique, mais très onéreuse, étant donné le prix élevé de l'appareillage nécessaire.

CONCLUSION

Toutes ces épreuves mesurent essentiellement l'absorption globale de la vitamine B₁₂, mais n'explorent pas directement l'absorption intestinale de cette vitamine, et la différenciation entre un syndrome de malabsorption et une anémie de Biermer nécessite en général deux tests: l'un sans facteur intrinsèque, l'autre en présence de facteur intrinsèque. Dans l'anémie de Biermer, l'absorption est améliorée par la présence de facteur intrinsèque, tandis que dans le cas d'un syndrome de malabsorption, le facteur intrinsèque n'apporte aucune modification.

D'autre part, les épreuves de mesure de l'activité en facteur intrinsèque in situ, reposent sur l'emploi d'isotopes radioactifs.

Si la mise en circulation de tels éléments dans le corps humain se conçoit lorsqu'il s'agit d'une thérapeutique, il faut bien admettre la réserve que certains manifestent dans leur utilisation lorsqu'il s'agit d'un diagnostic et en-

core bien plus, lorsqu'il s'agit de recherches fondamentales. Et ceci d'autant plus qu'il est souvent nécessaire de répéter plusieurs fois les examens avant d'obtenir des résultats valables.

Les inconvénients de ces tests justifient les travaux entrepris pour mettre au point des techniques d'étude réalisables *in vitro*.

Les techniques d'étude du facteur intrinsèque *in vitro*

L'ÉLECTROPHORÈSE

Certains auteurs ont tenté de détecter à l'aide de l'électrophorèse sur papier l'absence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique. On sait que le facteur intrinsèque a la faculté de fixer la vitamine B₁₂, réalisant ainsi un complexe. Ce complexe soumis à l'analyse électrophorétique migre avec les protéines et les glucoprotéines en direction de l'anode, alors que la vitamine B₁₂, libre est transportée par le courant d'endosmose vers la cathode.

En réalisant l'électrophorèse du suc gastrique, dans lequel on fait, au préalable, incubé de la vitamine B₁₂ combinée, BARLOW et Coll. (1958-1959) et GULLBERG (1960) détectent la présence de vitamine en autoradiographiant la bande d'électrophorèse; GLASS et Coll. (1961-1962) découpent la bande en petits segments dont ils mesurent la radioactivité dans un compteur à scintillations.

Les résultats donnés par ces différentes techniques sont assez complexes et varient avec les conditions dans lesquelles sont réalisées les électrophorèses (Tampon, intensité du courant, durée de migration...). Il existe d'autre part, dans le suc gastrique, des substances sans activité antipernicieuse, capables de fixer la vitamine B₁₂, qui migrent également avec les protéines en direction de l'anode. C'est ainsi que GLASS remarque trois zones principales de radioactivité dans la région anodique après électrophorèse d'un suc gastrique normal (GLASS et Coll.: 1962).

La première, la plus proche du point d'application du dépôt est absente dans les sucs gastriques de Biermériers.

La seconde, chargée plus négativement, correspond à la zone des mucoprotéines glandulaires; elle est absente dans les sucs gastriques achlorhydriques; cependant, son activité en facteur intrinsèque est plus faible que celle de la première fraction.

La troisième enfin, a une capacité de fixation peu importante, on la retrouve toujours chez les Biermériers; elle ne présente donc aucun rapport avec le facteur intrinsèque.

L'emploi de l'électrophorèse du suc gastrique, dans des conditions parfaitement définies, permet de distinguer les sujets achlorhydriques et les Biermériers; cependant l'interprétation de cette technique est délicate: elle repose non pas sur une mesure directe de l'activité du facteur intrinsèque, mais sur la mise en évidence d'une propriété de ce facteur (la capacité de combinaison), et des substances de suc gastrique autres que le facteur intrinsèque présentent cette propriété.

LES TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES

Le sérum de certains Biermériers inhibe l'action du facteur intrinsèque sur l'absorption intestinale de vitamine B₁₂ (TAYLOR: 1959, SCHWARTZ: 1960). Ces sérums, lorsqu'ils sont mis en contact *in vitro* avec du suc gastrique, diminuent la capacité de fixation de ce suc (ABELS et Coll.: 1963.a). Par contre, les substances possédant une capacité de combinaison élevée, mais n'ayant aucune activité antipernicieuse, ne voient pas leur capacité de combinaison abaissée par la présence de sérum inhibiteur (ABELS et Coll.: 1963.a). Il semblerait que le sérum de Biermérien inhibe la capacité de combinaison des substances à activité antipernicieuse du suc gastrique, et reste sans action sur la capacité de combinaison des substances autres que le facteur intrinsèque. Par le biais de cet artifice, certains

auteurs se proposent de mettre en évidence l'absence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique.

Il suffit en effet de mesurer la capacité de combinaison du suc gastrique, puis de mesurer à nouveau la capacité de combinaison de ce suc en présence d'un sérum de Biermérien contenant des anticorps anti-facteur intrinsèque. Si les deux mesures donnent le même résultat, c'est que l'on est en présence d'un suc gastrique normal, on note une baisse de capacité de combinaison en présence de sérum inhibiteur.

Le sérum peut d'ailleurs être avantageusement remplacé par des gamma-globulines; celles-ci sont précipitées à l'aide de sulfate d'ammonium à partir d'un sérum de Biermérien (ABELS et Coll.: 1963 a), on élimine ainsi la capacité de combinaison propre du sérum.

Selon les auteurs, la capacité de combinaison est mesurée de manière différente.

ABELS et Coll. (1963 b) pratiquent une dialyse contre eau courante, à l'aide de tube Visking pendant vingt-quatre heures. ARDEMAN et CHANARIN (1963) utilisent du charbon actif à une solution de vitamine B₁₂ libre et combinée, le charbon fixe la vitamine B₁₂ libre (MILLER: 1957).

En réalité, le charbon fixe également une petite quantité de vitamine adialysable (ROSENTHAL et Coll.: 1962) et c'est pourquoi HERBERT et Coll. (1964) utilisent du charbon préalablement mélangé à de la sérum-albumine, un tel réactif fixant seulement la vitamine libre. Ces auteurs opèrent de la façon suivante: à 0,1 ml de suc gastrique à étudier, on ajoute 5 nanogrammes de vitamine B₁₂ marquée au cobalt 60, et 4 ml d'une suspension de charbon à 2,5 % contenant de la sérum-albumine bovine. On agite pendant quelques instants ce mélange, puis on centrifuge. On mesure la radio-activité du charbon représentant la vitamine restée libre. Cette expérience peut être répétée en présence de gamma-globulines anti-facteur intrinsèque donnant une nouvelle mesure. La confrontation des deux résultats permet de mettre en évidence l'absence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique à étudier.

ASSOCIATION DES TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES ET ÉLECTROPHORÉTIQUES

JEFFRIES et Coll. (1962-1963) ont mis également à profit l'action des anticorps anti-facteur intrinsèque pour identifier les substances antipernicieuses séparées par électrophorèse sur fibre d'amidon.

Ces auteurs pratiquent l'électrophorèse sur gel d'amidon d'un mélange vitamine B₁₂ - suc gastrique neutralisé. Après migration, ils mesurent la radioactivité en comptant celle-ci dans des segments de 1 cm de largeur. Ils éluent alors les substances combinées à la vitamine B₁₂, et après avoir ajouté des gamma-globulines anti-facteur intrinsèque isolées de sérum de Biermériers, font une nouvelle électrophorèse sur gel d'amidon. Le complexe facteur intrinsèque inhibé - vitaminé B₁₂ ne migre plus vers l'anode, mais stationne au niveau du dépôt lors de la deuxième migration.

CONCLUSION

Les techniques de recherche de la présence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique in vitro que nous venons d'étudier très brièvement, reposent toutes sur la détection des substances susceptibles de se combiner à la vitamine B₁₂ et sur la sélection parmi ces éléments de substances à activité antipernicieuse. Il s'agit là de méthodes indirectes qui ne mettent pas en évidence l'action du facteur intrinsèque proprement dite, c'est-à-dire l'absorption intestinale de vitamine B₁₂. En fait, cette propriété est fort mal connue et le mécanisme intime de la combinaison entre la vitamine B₁₂ et le facteur intrinsèque n'est pas encore éclairci. D'autre part, de nombreuses substances sont capables de se combiner à la vitamine, mais ne présentent pas pour cela une activité antipernicieuse. Il semble donc bien, dans l'état actuel de nos connaissances, que l'intérêt des techniques réside plus dans les investigations qu'elles peuvent apporter sur l'étude de la capacité de combinaison,

que dans la possibilité hypothétique de diagnostiquer simplement en clinique une absence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique.

C'est pourquoi il semblait utile de disposer de techniques d'étude spécifiques de l'activité du facteur intrinsèque et réalisables *in vitro*.

Techniques d'étude directe du facteur intrinsèque *in vitro*

A L'AIDE DE BROYATS ET DE COUPES

HERBERT en 1958 (b) a proposé, comme substrat de fixation de la vitamine B₁₂ des broyats de foie de rat frais ou lyophilisés. Ces broyats de foie sont incubés à l'air, à la température ambiante, en milieu calcique; ils sont ensuite lavés et incubés de nouveau avec de la vitamine B₁₂ radioactive pendant trente minutes (HERBERT: 1959 c). Après un second lavage, le résidu est centrifugé et la radioactivité mesurée. HERBERT (1960 b) déclare avoir obtenu une réaction stoichiométrique dans certaines limites, entre la fixation de vitamine B₁₂ et la concentration de facteur intrinsèque de porc. Ce test a été proposé comme méthode d'étude de l'activité du facteur intrinsèque.

D'autres épreuves reposant également sur la fixation de vitamine B₁₂ par des coupes ou des broyats de foie de rat ont été proposées par MILLER et HUNTER (1958), ainsi que par MINARD et WAGNER (1958).

Nous pensons que ces techniques doivent être rejetées. Il n'y a aucune raison d'admettre que la fixation de la vitamine B₁₂ par le foie soit contrôlée par le facteur de CASTLE. L'apparent parallélisme de la fixation hépatique avec la concentration en facteur intrinsèque du suc gastrique ne signifie rien et peut aussi bien être expliqué comme effet de l'absorption par le système réticulo-endothélial. Enfin, ces expériences étant réalisées avec des sucs gastriques hétérogènes, le foie étant celui d'un rat, les réactions sont d'une complexité telle qu'elles ne sont pas prévisibles.

DOSAGE DU FACTEUR INTRINSÈQUE
A L'AIDE DE SEGMENTS INTESTINAUX DE COBAYE

En se fondant sur les travaux de STRAUSS et WILSON (1959) qui montraient que l'intestin de cobaye avait, en ce qui concerne la nature du facteur intrinsèque, une spécificité considérablement atténuée, MM. WOLFF et NABET ont mis au point une méthode de dosage direct du facteur intrinsèque. Cette méthode repose sur la propriété d'un segment isolé d'intestin de cobaye, débarrassé par lavage de son propre facteur intrinsèque et maintenu en vie dans une solution physiologique, de fixer la vitamine B₁₂ en présence de facteur intrinsèque surajouté, celui-ci étant apporté sous forme de suc gastrique humain. En opérant avec de la vitamine B₁₂ radioactive marquée au cobalt 60, il est possible de mesurer alors avec facilité la proportion de vitamine absorbée par le segment intestinal et de connaître ainsi l'activité du suc gastrique que l'on étudie.

TECHNIQUE

(R. WOLFF et P. NABET: 1961 b - d, 1962 a).

On opère sur un cobaye mâle ou femelle, non à jeun, d'environ 300 à 800 grammes et sacrifié par un coup sur la nuque. Les poils de l'abdomen sont rasés, le ventre est ouvert, l'abouchement de l'iléon au caecum est repéré; à cet endroit, on rencontre une dilatation de l'intestin grêle de la taille d'une lentille qu'on doit exclure du prélèvement. A partir de ce repère, on prélève un segment d'intestin de 25 cm de long que l'on débarrasse de son méso adhérent. On désencombre rapidement la lumière intestinale de ses matières en injectant à la seringue 20 ml d'une solution de KREBS-HENSELEIT.

Le prélèvement est alors recueilli dans une boîte de Pétri remplie de solution de KREBS HENSELEIT; l'intestin à partir de ce moment doit être manipulé avec précaution, toujours immergé dans cette solution,

a) *Eversion de la muqueuse intestinale*

A l'aide d'une baguette de verre de 4 mm de diamètre, dont l'une des extrémités est mousse, on retourne l'intestin sur lui-même, de manière à mettre la muqueuse intestinale en contact avec le milieu extérieur. Cette opération est réalisée avec beaucoup de précaution en invaginant une extrémité du segment intestinal à l'aide de la baguette de verre, en faisant parcourir à cette invagination toute la longueur du segment intestinal. Lorsque l'intestin est retourné, on retire la baguette et on le fragmente en quatre segments égaux.

b) *Constitution des sacs*

On ligature à l'aide d'un fil de lin l'une des extrémités d'un fragment d'intestin, l'autre extrémité est ligaturée sur une aiguille à pointe mousse par laquelle est introduite la solution de KREBS HENSELEIT (x) de manière à obtenir un boudin flasque de 4 à 5 cm de long; en général, une petite bulle d'air reste emprisonnée lors de l'injection, elle permet d'assurer un minimum d'oxygénation. On retire l'aiguille et l'on termine la ligature. On confectionne ainsi quatre sacs par cobaye.

c) *Le lavage des sacs*

Par agitation, on lave les sacs dans trois bains successifs de 30 ml de solution KREBS HENSELEIT, chaque lavage dure environ 15 secondes.

Le but de ce lavage est d'éliminer, de façon égale pour chacun des sacs, le facteur intrinsèque propre de l'animal qui pourrait être resté sur la muqueuse. Chaque fragment est alors déposé dans la fiole à incubation qui lui correspond.

d) *Incubation*

Chaque fiole est un Erlen de 50 ml, muni d'un bouchon à deux tubulures permettant le gazage des fioles. Ces tu-

bulures sont fermées à l'aide de caoutchoucs sur lesquels sont fixées des pinces de Mohr. Chaque fiole contient :

Solution de KREBS HENSELEIT à concentration double (xx)	4 ml
Solution de suc gastrique (xxx)	2 ml
Solution de B ₁₂ Co 60 Merk diluée au 1/50 (xxx).	2 ml
Eau distillée	1 ml

Après l'introduction du sac intestinal dans la fiole, celle-ci est gazée à l'aide d'un mélange d'oxygène et de gaz carbonique (O₂ 95 % - CO₂ 5 %) pendant une dizaine de secondes. Puis les fioles sont soumises à une incubation à 37° C, avec agitation continue, dans un appareil de type Warburg, muni de supports à Erlen (1).

Après une heure d'incubation, on retire les sacs intestinaux de leur fiole et chacun des sacs est lavé successivement trois fois dans 30 cc de solution de KREBS HENSELEIT. On élimine ainsi la vitamine B₁₂ non fixée par la muqueuse.

On ponctionne le liquide intérieur à la seringue à l'aide d'une aiguille fine ; ce liquide passé au compteur à scintillation ne doit pas contenir la moindre trace de radioactivité, sinon l'expérience est à rejeter.

On sectionne alors les deux ligatures et l'intestin est immédiatement compté au compteur à scintillations cristal creux (Nucléar Chicago). Après comptage, on étanche l'intestin sur du papier filtre et on le pèse à la balance de torsion.

Le nombre de désintégrations par minute est rapporté à 100 mg de tissu frais après défalcation du mouvement propre.

x Solution KREBS HENSELEIT (1932).

On utilise les réactifs suivants :

a : Cl Na à 9 % (0,154 M)

b : Cl K à 1,15 % (0,154 M)

(1) Dispositif proposé par M. H. BENARD (Fabr. Roucaire. Paris).

c : Cl Ca à 1,22 % (0,11 M) anhydre pour analyses

d : $\text{PO}_4 \text{H}_2 \text{K}$ à 2,11 % (0,154 M)

e : $\text{SO}_4 \text{Mg}$, 7 H_2O à 3,82 % (1,154 M)

f : $\text{CO}_3 \text{H Na}$ à 1,4 % (0,154 M)

On fait passer dans la solution du CO_2 pendant une heure.

Solution de KREBS HENSELEIT.

100 ml d'une solution a

4 ml d'une solution b

3 ml d'une solution c

1 ml d'une solution d

1 ml d'une solution e

21 ml d'une solution f

130 ml de mélange

(xx) La solution de KREBS HENSELEIT double est une solution deux fois plus concentrée dans tous ses éléments que la solution classique. En effet, les quatre ml de solution double sont dilués au 1/2 par l'adjonction des quatre ml d'eau distillée contenant la vitamine B_{12} et le suc gastrique débarrassé de ses sels par dialyse.

(xxx) Vitamine B_{12} radioactive Merck au cobalt 60 au 1/1000 titrant environ: 0,01 microgramme/ml (0,06 microcurie/ml).

(xxxx) Le suc gastrique est prélevé à jeun, à la suite d'une injection intramusculaire de 0,5 mg de chlorhydrate d'histamine (dose pour adulte). Le liquide de stase est rejeté et le liquide gastrique est récolté pendant une heure et demie, puis clarifié par centrifugation et amené à pH 7 (pH de la solution de Krebs Henseleit). On le soumet alors à une dialyse pendant 24 heures afin de le débarrasser de ses sels.

RÉSULTATS

MM. R. WOLFF et P. NABET (1961 d, 1962 a) ont étudié à l'aide de cette technique la fixation de vitamine B₁₂ par la muqueuse intestinale de cobaye en l'absence de facteur intrinsèque d'une part, puis en présence de sucs gastriques normaux et pathologiques d'autre part.

RÉSULTATS EN L'ABSENCE DE FACTEUR INTRINSÈQUE

(R. WOLFF et Coll. 1961 d)

Dans ces expériences, les deux millilitres de suc gastrique sont remplacés par deux millilitres d'eau distillée, afin de conserver les conditions expérimentales de la méthode. Chacune des fioles contient alors :

4 ml de Krebs Henseleit double

1 ml de solution de vitamine B₁₂ diluée 1/50

3 ml d'eau distillée.

La technique par ailleurs, reste semblable. Les résultats de cette étude sont les suivants :

FIXATION DE BASE DE LA VITAMINE B₁₂ Co 60

exprimée en coups/mn (c/p/m) en l'absence de facteur intrinsèque (d'après la thèse de P. NABET: 1962 a).

13-15-24-26-41-33-29-27-28-35

M = 27,1

σ = 8,5

σ % = 31 %

Cette fixation est faible (28 c/p/m) sur un mouvement propre de 550) mais non négligeable. L'intestin de cobaye semble donc capable de fixer une petite quantité de vitamine B₁₂ en l'absence de facteur intrinsèque, cette fixation pouvant être due à un résidu de facteur intrinsèque propre à l'animal ou à la pénétration passive d'une petite quantité de vitamine dans la muqueuse intestinale (R. WOLFF et Coll. : 1964 a).

RÉSULTATS CHEZ LE SUJET NORMAL

(R. WOLFF et Coll.: 1961 d)

Une étude entreprise chez dix sujets normaux indique une variation d'absorption de vitamine s'échelonnant entre 3 774 c/p/m et 891 c/p/m par millilitre de suc gastrique (Tableau 1).

TABLEAU 1

Nom	Taux de F.I. par ml exprimé en c.p.m.	Moyenne	Taux moyen de F.I. produit en 90 mn exprimé en c. p. m.
BEL...	3 628-3920	3 774	830 280
SER...	2 252-2190	3 221	388 675
WIE...	4 164-3258	3 711	426 765
REM...	1 738-1938	1 838	367 600
SAN...	1 302-1180	1 241	223 380
ANT...	2 824-2486	2 655	268 155
DUP...	1 078-1280	1 179	97 857
MOU...	2 536- 918	3 277	743 879
BER...	2 728-3934	891	64 152
NOE...		3 331	433 030

Taux de facteur intrinsèque dans le suc gastrique du sujet normal
(d'après MM. WOLFF et NABET)

RÉSULTATS CHEZ LE SUJET BIERMÉRIEN

(R. WOLFF et Coll.: 1962 d).

Chez les sujets Biermériens, les résultats s'échelonnent entre 179 coups par minute et 505 coups par minute (Etude de neuf sujets: Tableau 2).

Si l'on considère la variation du taux moyen de facteur intrinsèque produit en quatre-vingt-dix minutes, on remarque qu'elle s'échelonne chez le sujet normal de 830 280 coups par minute à 64 152 coups par minute, alors que chez les Biermériens, elle varie seulement de 9 090 coups par minute à 1 342 coups par minute. De tels résultats

sont significatifs et permettent d'envisager un dosage « d'activité en facteur intrinsèque ».

TABLEAU 2

Nom	Taux de F.I. par ml exprimé en c.p.m.	Moyenne	Taux moyen de F.I. produit en 90 mn exprimé en c. p. m.
PIL...	240 - 316	278	1 556
BIC...	390 - 156	273	2 593
BAR...	342 - 108	225	7 650
GAR...	580 - 430	505	9 090
RON...	260 - 306	583	1 556
PEL...	584 - 322	453	6 885
BON...	470 - 458	464	4 037
BONN...	326 - 188	257	7 119
CHI...	154 - 204	179	1 342

*Taux de facteur intrinsèque dans le suc gastrique de neuf Biermériens
(d'après MM. WOLFF et NABET)*

DOSAGE EN FACTEUR INTRINSÈQUE

1° Etablissement d'une courbe de référence

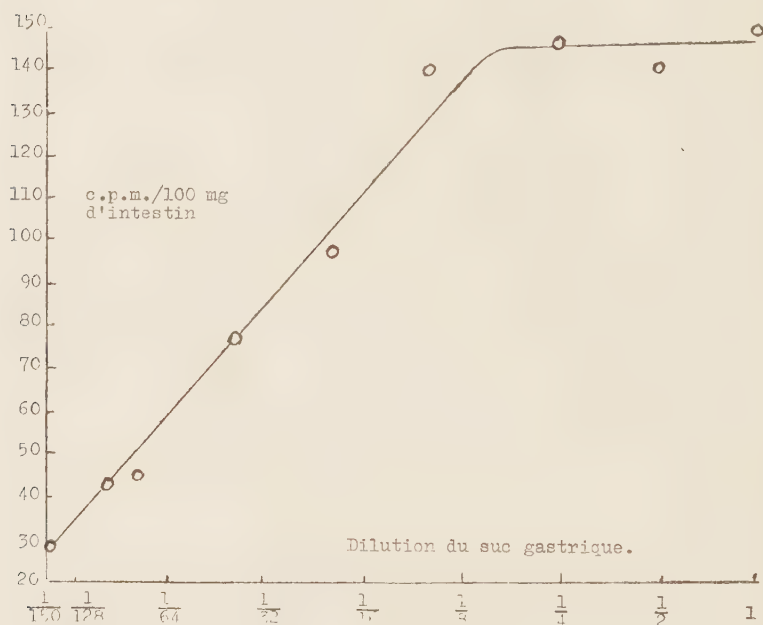
MM. R. WOLFF et P. NABET (1962 a), en appliquant cette technique à des dilutions de dix sucs gastriques normaux ont établi une courbe de référence.

FIXATION INTESTINALE DE VITAMINE B₁₂ Co 60 EN FONCTION DE LA CONCENTRATION DU SUC GASTRIQUE (mélange standard)

(D'après MM. WOLFF et NABET)

On remarque que la fixation est proportionnelle au logarithme de la dilution, entre la dilution au 1/50° et celle au 1/7°. Pour des concentrations de facteur intrinsèque supérieures à la dilution 1/7°, la fixation intestinale n'augmente plus.

Cette constatation a déterminé MM. WOLFF et NABET à procéder avant tout dosage à un essai d'orientation afin de se situer, lors du dosage, dans la partie la plus intéressante de la courbe.



2° Essai d'orientation et dosage

Cette détermination consiste à faire incuber quatre morceaux d'intestin provenant du même cobaye avec des dilutions croissantes du suc gastrique à étudier; ces concentrations sont les suivantes: pur, 1/4, 1/16^e, 1/64^e. On choisit alors la dilution qui a permis une fixation comprise entre 60 et 120 coups/minute. Avec cette dilution, on fait un nouveau dosage à l'aide d'intestins provenant de dix cobayes. On prend la moyenne des résultats obtenus et on rapporte cette moyenne à la courbe de référence; il est possible de déterminer ainsi la dilution du suc gastrique normal, correspondant à ce résultat. Le rapport entre cette

dilution et la dilution réelle du suc gastrique étudié permet de déterminer l'activité de ce suc gastrique en fonction de l'activité du suc gastrique normal.

Empruntons un exemple à la thèse de P. NABET (1962a).

Suc gastrique de M. DUVE...

Essai d'orientation

pur, donne une fixation de 174 c/p/m/100 mg

1/4 — de 179 —

1/16° — de 64 —

1/64° — de 29 —

— La dilution au 1/16° donne une valeur comprise entre 60 et 120 coups par minute.

— Dosage sur la dilution au 1/16°

64-34-50-60-57-47-38-34-66-50

M = 48,5 σ = 11

48,5 c.p.m./100 mg d'intestin correspondent à une activité produite par un suc gastrique normal dilué au 1/88°.

La dilution réelle étant au 1/16°, le suc gastrique est donc 88

— = 5,5 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

16

Comme nous l'avons remarqué, cette méthode repose sur la fixation de la vitamine B₁₂ au Co 60 par un segment d'intestin de cobaye en présence de suc gastrique humain, et sur la relation linéaire semi-logarithmique qui existe, entre certaines limites, entre la concentration en facteur intrinsèque du suc gastrique et la fixation de vitamine B₁₂ radioactive. Une telle relation n'apparaît que statistiquement: c'est ainsi que la réalisation d'un seul dosage nécessite le sacrifice de onze cobayes.

C'est pourquoi MM. WOLFF et NABET ont récemment complété cette technique et mis au point une méthode im-

munologique de dosage du facteur intrinsèque (M. R. WOLFF et Coll. : 1964 b). Cette méthode repose sur l'observation de TAYLOR et MORTON (1958) qui ont montré qu'un facteur intrinsèque d'origine hétérologue était doué chez le lapin d'un pouvoir antigénique. En opérant après un essai d'orientation sur une gamme croissante de concentration de facteur intrinsèque en présence d'une dose constante d'immunsérum, il est possible de mettre en évidence la neutralisation du facteur intrinsèque par les anticorps de sérum de lapin immunisé. On mesure alors, à l'aide du test d'absorption de l'intestin de cobaye décrit précédemment, le taux de facteur intrinsèque neutralisé par l'immunsérum. On détermine, dans un premier temps avec un facteur intrinsèque de valeur connue, le titre de l'immunsérum. Le rapport des deux valeurs indique l'activité en facteur intrinsèque de l'extrait inconnu.

Cette méthode très précise et de grand intérêt pour toutes les investigations de recherche sur le facteur intrinsèque, présente en outre le grand avantage de ne nécessiter qu'un seul segment pour chaque concentration : ce qui fait un total de douze segments par essai, soit trois cobayes pour une mesure.

Cependant il est apparu que pour les besoins de la clinique il pouvait suffire d'avoir à sa disposition un test simple et rapide, capable de mettre en évidence directement la présence dans un suc gastrique d'un taux normal ou plus ou moins diminué de facteur intrinsèque.

TEST CLINIQUE DE RECHERCHE DU FACTEUR INTRINSÈQUE DANS LE SUC GASTRIQUE

MM. WOLFF et NABET (1965) ont décrit un test clinique qui présente l'avantage de ne nécessiter qu'un seul cobaye pour l'essai d'un suc gastrique donné. Ce test est fondé sur l'étude de l'absorption intestinale de vitamine B₁₂ radioactive au cobalt 60 en présence de concentrations variables de suc gastrique.

TECHNIQUE

Rappelons brièvement les modalités techniques qui sont exactement identiques dans leur principe à celles décrites dans le dosage direct du facteur intrinsèque à l'aide de l'intestin de cobaye. Après sacrifice d'un cobaye, on prélève un fragment d'intestin grêle de 25 cm de long; ce fragment est rincé et la muqueuse intestinale retournée. On le partage alors en quatre petits segments qui sont utilisés pour la constitution de sacs. Ceux-ci sont répartis dans quatre fioles coniques qui contiennent entre autres 1 millilitre de solution B₁₂ Merck au 1/100^e et 2 millilitres de suc gastrique à étudier, soit pur, soit dilué au 1/4, au 1/16, 1/64. Après une heure d'incubation dans un appareil de Warburg, la radioactivité absorbée par chaque fragment intestinal est mesurée et rapportée à 100 mg de tissu frais. On obtient donc quatre résultats pour chaque malade correspondant au suc gastrique pur et aux diverses dilutions.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS (Tableau 3)

a) *Activité normale en facteur intrinsèque*: les résultats sont situés au 1/4 et presque toujours aussi les solutions diluées au 1/16^e. La solution au 1/64^e fournit presque toujours des résultats voisins ou égaux à 30.

TABLEAU 3

Activité en facteur intrinsèque	Pur	1/4	1/16	1/64
Activité normale	> 40	> 40	> 40	≥ 30
Activité nulle	< 30	< 30	< 30	< 30
Baisse modérée	> 30	> 30	< 30	< 30
Baisse d'activité variable				
Forte baisse	> 30	< 30	< 30	< 30

Interprétation des résultats du test clinique de l'intestin de cobaye
(en coups/minute/100m g de tissu frais)

b) *Activité nulle en facteur intrinsèque*: tous les chiffres sont inférieurs à la fixation de base (30). Si aucun

de ces chiffres ne dépasse la valeur de 5, le suc gastrique contient des inhibiteurs puissants.

c) *Activité abaissée en facteur intrinsèque*: la baisse est nette, mais modérée, si le suc gastrique pur et la dilution au 1/4 fournissent seuls des chiffres au-dessus de la fixation de base; elle est forte, si seule la solution pure donne des chiffres supérieurs à 30 et si les dilutions suivantes sont inférieures à ce chiffre.

Si ce test n'aboutit pas à un dosage, les éléments qu'il apporte sont suffisants pour les besoins de la clinique. Il offre d'ailleurs de nombreux avantages: d'une part, il ne fait courir aucun risque au malade, le traitement ne modifie en rien le résultat du dosage, le malade peut donc être traité et le patient n'entre à aucun moment en contact avec des éléments radioactifs. D'autre part, il étudie exclusivement le temps intestinal de l'absorption de la vitamine B₁₂, les autres causes de perturbation du métabolisme de cette vitamine sont ainsi éliminées en un seul examen. Il n'y a aucun inconvénient à faire subir cet examen à des sujets atteints d'affection rénale ou d'insuffisance hépatique.

Le recueil du suc gastrique ne nécessite pas d'hospitalisation et la recherche du facteur intrinsèque peut avoir lieu à l'occasion d'un dosage de l'acidité gastrique, examen qui est toujours demandé lorsque l'anémie pernicieuse est suspectée. Cette recherche est faite au laboratoire, ce qui dispense le médecin déjà surchargé d'entreprendre au lit du malade de fastidieuses épreuves de traversées d'isotope. Quant au laboratoire, il dispose toujours d'un élevage de cobayes et de l'appareillage nécessaire pour réaliser cet examen.

Rien ne s'oppose donc à ce que le test devienne un examen de routine pour confirmer le diagnostic de maladie de Biermer.

Variations Physiologiques et Pathologiques

En raison des avantages incontestables apportés pour le malade et pour l'utilisateur, on a employé comme moyen d'investigation le test de fixation à l'intestin de cobaye.

Rappelons qu'il s'agit de mesurer l'absorption de vitamine B₁₂ radioactive marquée au Co 60, en présence du suc gastrique pur et de dilutions de suc gastrique au 1/4, 1/16, 1/64.

Rappelons également qu'avec cette technique, une activité normale en facteur intrinsèque est représentée par des résultats situés entre 40 et 200 avec la solution pure et les dilutions au 1/4 et au 1/16, la dilution au 1/64 fournissant des résultats en général voisins de la fixation de base (30 coups/minute/100 mg de tissu frais); et qu'une activité nulle en facteur intrinsèque est représentée par des chiffres inférieurs ou voisins de la fixation de base à toutes les concentrations.

CHOIX DES SUJETS

Le suc gastrique a été prélevé chez des sujets normaux d'âge variable (nourrissons, enfants, personnes de plus de 60 ans) et chez des malades présentant les affections les plus variées.

RECUEIL DU SUC GASTRIQUE

Le suc gastrique est récolté chez des sujets (à jeun depuis la veille, et n'ayant pas reçu depuis quarante-huit heures de médicaments à base de vitamine B₁₂, ou de facteur intrinsèque), après une injection intramusculaire de 0,5 mg de chlorhydrate d'histamine (dose pour un adulte).

On rejette le liquide de stase et on recueille le suc gastrique pendant une heure et demie. Par centrifugation on le clarifie et on le neutralise à pH 7 avec le minimum de lessive de soude. On le soumet ensuite à une dialyse pendant 24 heures.

**Activité en facteur intrinsèque du suc gastrique
en fonction de l'âge chez le sujet normal**

LE NOURRISSON

On ne trouve pas d'étude sur le facteur intrinsèque chez le nourrisson. En effet, l'emploi des radioisotopes des techniques usuelles ne permettait pas de réaliser une telle étude. Il n'en est pas de même du test de l'intestin de cobaye.

On a recherché la présence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique de douze nourrissons. Ceux-ci n'ont pas reçu de chlorhydrate d'histamine avant le recueil du suc gastrique; la recherche a donc porté sur le liquide de stase, ce qui limite l'interprétation des résultats (Tableau 4).

TABLEAU 4

A G E	P U R	1/4	1/16	1/64
1 jour	60	63	33	20
1 jour	73	46	39	40
6 jours	37	63	95	36
14 jours	31	60	54	48
18 jours	34	71	58	29
25 jours	95	145	81	40
45 jours	44	47	38	30
2 mois	51	49	39	41
2 mois $\frac{1}{2}$	33	48	63	34
6 mois	81	74	-	-
7 mois	-	48	64	34
9 mois	95	143	96	58
1 an	-	52	71	47

*Résultats du test de l'intestin de cobaye chez le nourrisson
(en coups/minute/100 mg de tissu frais)*

Cependant, on peut conclure de l'étude de ces résultats, qui sont tous supérieurs à la fixation de base, que l'estomac du nouveau-né sécrète du facteur intrinsèque.

L'ENFANT

M. P. NABET (1962 a) a étudié le premier dans sa thèse le facteur intrinsèque chez l'enfant normal. Il a constaté la présence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique à des taux variables. Sur sept sujets étudiés, quatre présentaient une activité normale, alors que les trois autres avaient une activité plus basse.

Cette étude a été reprise avec le test clinique de l'intestin de cobaye chez huit enfants qui n'avaient aucune affection gastrique, hématologique ou pouvant perturber la sécrétion du facteur intrinsèque (Tableau 5).

TABLEAU 5

NOM	AGE	TEST INTESTIN DE COBAYE			
		PUR	1/4	1/16	1/64
J. C.	3 ans	24	33	40	38
M. M.	5 ans	44	61	30	20
J.M.C.	5 ans	65	93	85	40
L. J.	6 ans	28	54	43	17
D. M.C.	6 ans	221	316	133	39
H. V.	6 ans	45	52	49	27
G. J.	11 ans	95	142	67	30

*Le test clinique de l'intestin de cobaye
chez sept enfants normaux.*

Chez ces enfants, on trouve une activité variable en facteur intrinsèque et quelques résultats sont voisins de la fixation de base.

Cette recherche a été faite sur des liquides de stase et on peut se demander si dans certains cas une partie du

facteur intrinsèque n'était pas détruite. Ces résultats permettent de conclure qu'en moyenne la sécrétion de facteur intrinsèque est identique à celle de l'adulte chez l'enfant normal.

LE SUJET AGÉ

Le test d'absorption hépatique (GLASS: 1956) et le test de SCHILLING double (CHERNISCH et Coll.: 1957) ont permis d'obtenir une baisse de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ chez certains sujets âgés. M. R. WOLFF et Coll. (1961 a) ont confirmé la baisse ou l'absence d'activité en facteur intrinsèque dans le suc gastrique de certains sujets âgés en recherchant directement ce facteur à l'aide du test de l'intestin de cobaye.

Selon ces différents auteurs, cette baisse d'activité serait plus accentuée chez les sujets en état d'hypochlorhydrie ou d'achlorhydrie.

Cette étude a été reprise à l'aide du test clinique de l'intestin de cobaye sur dix-sept sujets, hommes et femmes, dont l'âge variait entre 59 et 85 ans et qui ne présentaient aucune affection en rapport avec une modification du facteur intrinsèque (Tableau 6). On a également rapporté dans ce tableau le pH du suc gastrique; cette mesure permet en effet une évaluation qualitative de la présence ou de l'absence d'acide chlorhydrique libre; on peut admettre en effet avec un pH égal ou inférieur à 3 la présence d'acide chlorhydrique libre, et avec un pH supérieur à 3 l'existence d'une achlorhydrie.

Pour seize sujets, l'activité en facteur intrinsèque est normale dans dix cas, nulle dans cinq cas et plus ou moins abaissée dans un cas.

Les sujets qui présentent une activité normale ont tous de l'acide chlorhydrique libre, alors que les sujets qui ont une activité nulle présentent également une achlorhydrie.

Chez les sujets âgés, on observe donc dans quelques cas, soit une baisse, soit une absence totale de facteur intrin-

sèque. Dans l'ensemble, il existe une certaine corrélation entre la sécrétion d'acide chlorhydrique libre et celle du facteur intrinsèque.

Il semble donc que chez certains vieillards la sécrétion du facteur intrinsèque et celle de l'acide chlorhydrique, dont l'origine commune serait les cellules bordantes de la muqueuse fundique, soit plus ou moins diminuée. Ceci

TABLEAU 6

N O M	A G E	pH ou état de l'acidité gastrique	TEST DE L'INTESTIN DE COBAYE .			
			Pur	1/4	1/16	1/64
T... P.	80 ans	1,2	75	86	65	32
M... C.	77 ans	1,2	158	76	40	29
G... D.	75 ans	2,8	49	81	110	36
M... E.	69 ans	normal	64	199	120	26
G... A.	68 ans	2,5	50	144	109	20
H... M.	68 ans	1,6	155	139	—	—
P... A.	62 ans	1,1	73	127	44	17
L... F.	61 ans	2	110	109	95	43
P... E.	59 ans	1,7	32	50	46	43
P... M.	85 ans	achlorhydrie	0	0	0	5
D... C.	84 ans	7,4	43	59	70	41
S...	80 ans	8,7	49	20	13	10
PER. M.	76 ans	7,5	5	6	12	27
SUR...	72 ans	4,3	0	6	20	29
M... J.	70 ans	8	27	30	83	103
C... L.	69 ans	8	5	2	20	13

Résultats du test de l'intestin de cobaye chez le sujet âgé.

rentretrait dans le cadre général de la baisse d'activité glandulaire observée au cours du vieillissement de l'individu.

Le facteur intrinsèque en pathologie

L'ANÉMIE PERNICIEUSE

(*Maladie d'Addison Biermer*)

(BERNARD: 1948) (BESANÇON in E. M. C.)

Si l'on s'en tient à la nomenclature des pays anglo-saxons, on peut actuellement définir la maladie d'Addison-Biermer comme une avitaminose B₁₂ consécutive à un défaut de sécrétion de facteur intrinsèque.

ÉTIOLOGIE

Cette maladie est une affection de l'âge mûr et de la vieillesse, elle est exceptionnelle dans l'enfance et très rare avant trente ans. Elle frappe particulièrement la race blanche avec une prédilection pour les populations nordiques (FRIEDLANDER: 1934). Elle est actuellement peu fréquente en France.

Cette affection semble frapper au hasard; cependant, on retrouve dans son étiologie un certain nombre de facteurs constitutionnels: les Biermériens se présentent, en général, comme des sujets robustes, ce qui contraste avec leur très grande asthénie. Les statistiques mettent, d'autre part, en évidence une prédisposition héréditaire (LAMY et BESANÇON: 1954).

SYMPTOMES

Période de début. — Le début est insidieux, progressif, souvent impossible à fixer avec exactitude. Le malade accuse une grande fatigue, présente une dyspnée d'effort et des troubles digestifs qui peuvent égarer provisoirement le diagnostic. Quelquefois apparaît d'emblée un syndrome nerveux.

Période d'état. — Une asthénie intense confine le malade au lit. Celui-ci présente une dyspnée que n'atténue pas la position assise et qui s'exagère au moindre effort.

La fièvre est fréquente et elle évolue par poussées. La maladie se manifeste par trois grands désordres : sanguin, digestif, nerveux.

1° *Les manifestations sanguines*

Ce sont les troubles qui accompagnent toute déglobulisation importante. On est frappé par la pâleur intense vieillesse de ces malades. L'examen des gencives, des conjonctives montre des muqueuses exsangues. Des troubles circulatoires sont de règle ; sensations de palpitation, lipothymies, crises d'angor. La tension artérielle est assez basse.

A l'auscultation, on perçoit généralement un souffle systolique, s'étendant à la base et au-dessus de la pointe, irradiant vers les vaisseaux du cou, qui peut être très intense et conduire alors à un diagnostic erroné de cardiopathie valvulaire.

A la radioscopie, on note une augmentation du volume du cœur et l'électrocardiogramme révèle parfois des signes « d'ischémie » ou de « lésions ischémiques » sous-endocardiques ou sous-épicaudiques.

2° *Les manifestations digestives*

La glossite est fréquente mais inconstante. Le malade ressent des sensations de brûlures de la langue au contact d'aliments acides ou chauds. L'aspect le plus souvent rencontré est celui d'une glossite dépaillante plus ou moins étendue. La surface de la langue apparaît lisse et brillante, comme vernissée. On rencontre plus rarement la glossite de Hunter. Celle-ci évolue en deux phases : une phase inflammatoire préatrophique pendant laquelle apparaissent des zones sèches avec des vésicules hémorragiques, une phase secondaire où se constitue l'atrophie, localisée d'abord à la pointe et aux bords, puis s'étendant d'avant en arrière à la face supérieure, enfin à la face inférieure. La glossite n'est cependant pas pathognomonique de l'anémie de Biermer et on la rencontre aussi dans l'anémie hypochrome.

L'estomac est presque constamment atteint. L'anorexie est habituelle mais non constante, elle est le plus souvent électorale pour les viandes et pour les graisses. Les accès douloureux sont assez fréquents.

A la radiographie, l'estomac est peu modifié, on signale quelquefois des images pseudo-tumorales, lacunaires, siégeant au niveau de l'antrum pylorique ou de gros plis anormaux enchevêtrés.

A la gastroscopie, on remarque assez fréquemment une gastrite atrophique, la muqueuse présentant des plaques d'atrophie nacrées siégeant essentiellement à la face antérieure fundique basse et parfois sur le pilier antérieur (BESANÇON: 1955).

Les troubles du transit sont assez fréquents, en particulier la diarrhée souvent grasseuse et abondante.

3° *Manifestations neuropsychiques*

Les manifestations psychiques peuvent prendre des formes multiples et variées. Le caractère des Biermériens est souvent difficile et ils apparaissent tantôt agités, tantôt déprimés. Leur mémoire est infidèle. Ces troubles légers font quelquefois place à des désordres beaucoup plus graves: état d'excitation aiguë, avec hallucination, délire paranoïaque, confusion mentale, dépression mélancolique.

On décèle dans 89 % des cas, des troubles neurologiques peu importants; les malades se plaignent souvent de paresthésies, d'engourdissements, de fourmillements prédominant à l'extrémité distale des membres inférieurs et quelquefois de douleurs fulgurantes. L'examen révèle fréquemment une atteinte de la sensibilité profonde, avec diminution de la sensibilité osseuse aux vibrations du diapason, perte du sens staturo-motriciel et de la discrimination épicritique. A ce stade, on peut également rencontrer une légère incoordination des mouvements (qui se traduit par un signe de Romberg) et des modifications des réflexes (exagération des réflexes tendineux, parfois réflexe cutané plantaire en extension). Mais les perturbations neurologiques peuvent être beaucoup plus graves; ces manifes-

tations sont alors dans la majorité des cas tardives, contemporaines d'une anémie particulièrement importante ou d'une rechute. Le syndrome de dégénérescence combinée s'installe. Les troubles moteurs sont importants et la démarche est du type ataxo-cérébelleux. Les réflexes tendineux d'abord exagérés sont abolis et les troubles de la sensibilité profonde s'étendent aux membres inférieurs. Des troubles sphinctériens apparaissent, et il se développe une ataxie des membres inférieurs. Les progrès de l'ataxie et de la paralysie confinent le malade au lit.

Mais le syndrome de l'anémie pernicieuse peut prendre bien d'autres formes, que la topographie variée des foyers de dégénérescence médullaire explique: syndrome ataxique pur (pseudo-tabes anémique), syndrome pyramidal dominant (paraplégie anémique), formes localisées aux membres supérieurs. Les lésions peuvent diffuser hors de la moelle et on peut rencontrer des accidents bulbaires: dysarthrie, paralysie de certains nerfs crâniens (auditif et dans de très rares cas, facial, spinal, olfactif). Quelques localisations névritiques ont été signalées se traduisant par des douleurs, des crampes, de l'amyotrophie.

Des troubles sensoriels ont été également signalés, mais ils paraissent liés directement à l'anémie: bourdonnements d'oreille, légère amblyopie. Des lésions rétiniennees se rencontrent fréquemment, mais leur aspect n'a rien de bien spécifique et ne saurait en aucun cas avoir une valeur diagnostique.

4° *Signes négatifs*

Il est important de remarquer que les organes hématopoïétiques: os, ganglions, foie, rate sont normaux à l'examen clinique.

Examen hématologique

LE SANG

1° *L'anémie*. — Le nombre des hématies est très peu élevé et parfois voisin de un million. L'anémie est hyperchro-

me, c'est-à-dire que le taux de l'hémoglobine est proportionnellement moins diminué que le chiffre des hématies. Les chiffres habituels de valeur globulaire sont franchement supérieurs à un.

Les hématies sont de taille très inégale et on remarque la présence de cellules géantes: les mégaloctes dont le volume globulaire est voisin de $160 \mu^3$ présentent une couleur homogène, aussi intense au centre qu'à la périphérie, due à leur richesse en hémoglobine.

Avant traitement, le taux des réticulocytes est égal ou inférieur à la valeur normale (1 %). Quelquefois on retrouve de rares hématies nucléées. La résistance globulaire est normale.

2° *Leucopénie*. — Elle est due à la diminution du nombre des polynucléaires neutrophiles, elle est constante et va de pair avec l'anémie. En général, les chiffres sont voisins de 3 000 leucocytes.

3° *Thrombopénie*. — Elle la règle avec des chiffres inférieurs à 100 000.

LA MOELLE OSSEUSE

L'examen de la moelle osseuse doit être effectué avant tout traitement pour être caractéristique.

1° *Série rouge*. — La lésion essentielle est la mégaloblastose médullaire (MOREL et Coll.: 1955). La plupart des mégaloblastes rencontrés sont jeunes, basophiles, d'où le terme de « moelle bleue ». Comme l'indique leur nom, ils sont de très grande taille, avec un développement harmonieux du cytoplasme et du noyau.

Cette lignée comporte également des formes plus jeunes: les promégaloblastes qui sont issus directement des hémohistioblastes, des formes plus évoluées chargées d'hémoglobine: les mégaloblastes polychromatophiles et orthochromatiques; et enfin des formes anucléées: les mégaloctes que l'on retrouve dans le sang périphérique.

Un certain nombre d'anomalies perturbent donc l'évolution du mégalo-blaste basophile vers les formes adultes. Ces anomalies sont les suivantes : la présence de nombreuses mitoses avec prolifération excessive des formes jeunes, le retard de la maturation constant du noyau et parfois même du cytoplasme, un polymorphisme de maturation des constituants cellulaires.

2° *Série blanche*. — Les myélocytes et les métamyélocytes sont de taille géante avec des déformations et des fragmentations excessives du noyau.

3° *Plaquettes*. — Les mégacaryocytes sont très peu nombreux.

EXAMEN DE L'ESTOMAC

1° *Le tubage gastrique*. — A l'opposé du myélogramme, le tubage gastrique peut être réalisé en cours de traitement ; en effet, les altérations qu'il décèle sont irréversibles. Le recueil du suc gastrique est réalisé après injection de chlorhydrate d'histamine, dont le rôle est de produire une sécrétion semblable à celle obtenue après excitation du pneumogastrique. On dose dans le suc gastrique l'acidité libre et l'acidité totale.

Chez le Biermérien, la perte complète de l'acidité libre est un signe quasi-constant, l'acidité totale atteignant une valeur variable.

Comme nous le verrons, le tubage gastrique est d'un intérêt considérable dans le diagnostic de l'anémie de Biermer : il met directement en évidence l'absence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique.

2° *La radiologie*. — Elle est nécessaire pour rechercher les polypes et les cancers auxquels les Biermériens sont prédisposés.

3° *La gastroscopie* (BESANÇON : 1955 - DEBRAY et Coll. : 1955). — Elle permet de découvrir fréquemment des zones de gastrite atrophique dont le siège d'élection est la face

antérieure fundique basse et souvent le pilier antérieur, puis l'atrophie se généralise dans toute la région fundique.

On peut aussi parfois observer une pâleur de la muqueuse, un effacement des plis et une visibilité anormale des arborisations vasculaires à travers une muqueuse amincie.

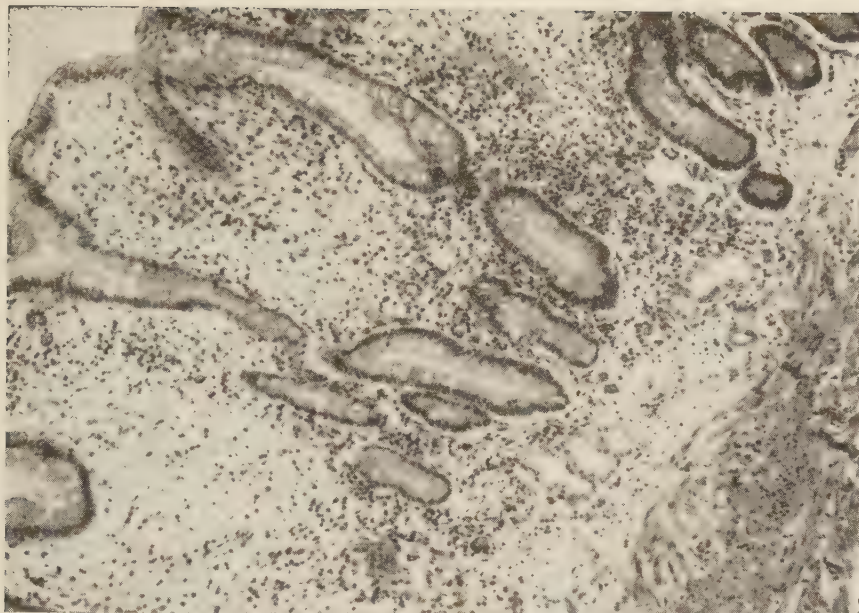
Examens complémentaires

1° *Signes d'hémolyse.* — La plus grande partie des mégalo blastes mûrs est détruite sans production d'érythrocytes; la durée de vie globulaire est nettement diminuée, il existe une hémolyse intense. Si l'aspect des téguments ne met pas toujours en évidence le subictère, celui-ci peut être reconnu à la couleur jaune d'or du sérum, à l'augmentation du taux de la bilirubine, à l'urobilinurie et à l'accroissement de la stercobiline fécale.

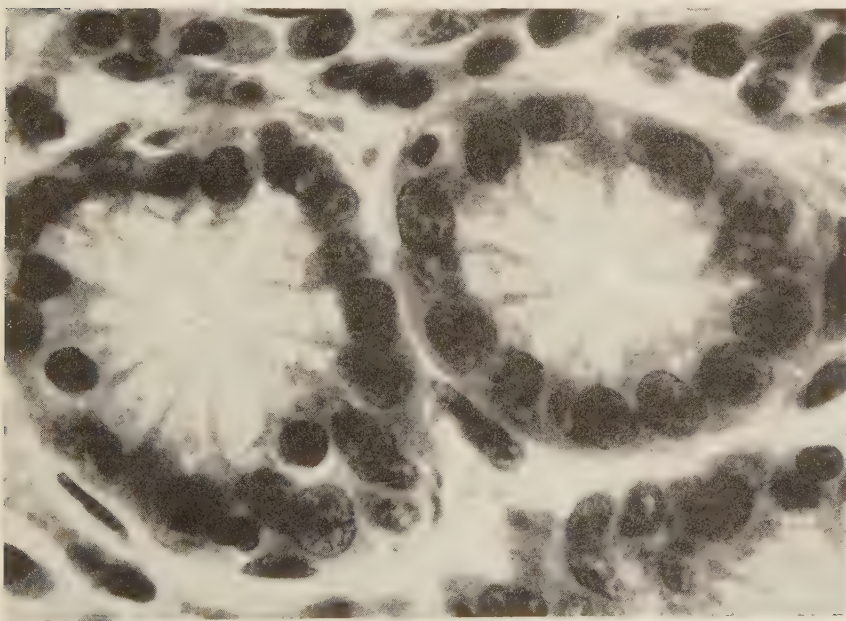
Le taux du fer sérique est largement au-dessus de 140 microgrammes pour 100 ml et l'on peut rencontrer fréquemment des taux de 200 microgrammes.

2° *Mesure directe d'avitaminose B₁₂.* — On peut doser directement la vitamine B₁₂ dans le sérum, à l'aide de techniques microbiologiques très sensibles (R. WOLFF et Coll.: 1955 a). Dans le sérum de Biermérien, la quantité de vitamine B₁₂ est d'environ 10 à 13 milligrammas/100 ml, alors que chez le sujet normal elle est de 60 milligrammas/ml.

3° *Transit de la vitamine B₁₂ radioactive.* — Les épreuves de SCHILLING, GLASS, HEINLE que nous avons décrites mettent en évidence une perturbation dans l'absorption de la vitamine B₁₂. Répétées une deuxième fois, après administration d'un facteur intrinsèque normal, elle peuvent permettre de déceler un défaut de sécrétion du facteur intrinsèque. Nous pensons qu'elles peuvent être avantageusement remplacées par la technique de l'intestin de cobaye.



Gastrite atrophique. Glandes rarifiées ne comportant que des cellules à mucus et pas de cellules bordantes. H.E.S. Gr. $\times 115$.



Détail de la figure précédente. Noter l'absence de cellules bordantes au niveau du revêtement des glandes. H.E.S. Gr. $\times 1150$.

Documents aimablement mis à notre disposition
par le laboratoire d'Anatomie Pathologique de la Faculté.

Formes cliniques

La forme que nous avons décrite est la plus fréquente. Cependant, le tableau clinique de la maladie de Biermer est très riche en variantes symptomatiques. Quelques anémies pernicieuses ont été décrites chez l'enfant (POHL: 1940 - MOLLIN et Coll.: 1955 a) et chez la femme enceinte. D'autre part, les manifestations cliniques neuropsychiques peuvent devenir prépondérantes et l'on peut voir s'installer, bien avant que l'anémie ne se révèle, une ataxie ou une paraplégie ou encore des états mélancoliques, hallucinatoires ou délirants, et même un coma.

De même les manifestations digestives peuvent être prépondérantes et donner des formes pseudo-cancéreuses ou des formes diarrhéiques qui simulent la sprue.

Physiopathologie - Pathogénie

L'étude des malades traités par la vitamine B₁₂ a permis de fournir déjà quelques explications aux principaux désordres de la maladie d'Addison-Biermer, mais jusqu'à ce jour, tous les problèmes posés par cette affection ne sont pas résolus et les théories absolues sont encore prématurées. L'étiologie enfin, demeure inconnue.

L'anémie trouve son origine dans un trouble de maturation du mégalo-blaste. Ce défaut de construction de la lignée rouge a pour cause une carence en vitamine B₁₂. En effet, l'administration quotidienne par voie intramusculaire d'un microgramme de vitamine B₁₂ (au minimum) provoque une régénération hématologique presque immédiate. Les mégalo-blastes sont transformés en normoblastes et il se produit une crise réticulocytaire. Après deux semaines de traitement, le nombre des hématies augmente, d'abord à une cadence rapide (1 000 000 par semaine environ) puis, à un rythme plus lent. Il faut un minimum de deux mois pour que l'anémie ait totalement disparu.

Les désordres nerveux sont également attribués à une carence particulièrement profonde en vitamine B₁₂ et une

vitaminothérapie bien conduite les prévient la plupart du temps et les corrige souvent.

Les signes digestifs (glossite, dyspepsie, diarrhée) résultent également de l'avitaminose B₁₂, car ils s'amendent rapidement avec la vitaminothérapie. Quant à la muqueuse gastrique, si elle se recoloré et que ses plis se reconstituent, cette réparation n'est qu'apparente, et le microscope ne montre jamais une régénération glandulaire. Nos connaissances sur le rôle biochimique de la vitamine B₁₂ sont encore fragmentaires: elles proviennent, pour la plupart, d'études réalisées chez les microorganismes.

Cette vitamine interviendrait dans de nombreuses réactions dont l'importance est considérable, en particulier les réactions de transméthylation. Chez *Escherichia Coli*, le passage de l'homocystéine en méthionine serait sous la dépendance de la vitamine B₁₂ (DAVIS et Coll.: 1950).

Elle interviendrait également dans le métabolisme des nucléoprotéides; elle enrichit, en effet, les microorganismes en acide ribonucléique. La synthèse des désoxyribonucléosides semble être en cause. Ces nucléosides sont capables de remplacer la vitamine B₁₂ chez certains lactobacilles (WRIGHT et Coll.: 1948).

La vitamine B₁₂ intervient enfin dans la synthèse de l'hémoglobine, dans le métabolisme de l'acide folique, et dans certains processus de détoxication. L'importance du rôle de la vitamine B₁₂ dans l'organisme explique les nombreux troubles qui apparaissent lorsque celle-ci vient à manquer.

Quant à l'atrophie des glandes de la muqueuse gastrique résistant à toute vitaminothérapie, elle est à l'origine de l'achlorhydrie et de la carence en vitamine B₁₂.

En effet, les premiers auteurs qui se penchèrent sur le problème de la thérapeutique de l'anémie pernicieuse ont remarqué que la viande de bœuf (qui est riche en vitamine B₁₂) n'avait un effet curatif que lorsqu'elle était absorbée en présence de suc gastrique d'un individu sain (dix millilitres au minimum de suc gastrique).

Le traitement vitaminique par voie buccale (à faible dose ou à dose moyenne) ne corrige en aucun cas l'anémie, si le sujet n'absorbe pas la vitamine B₁₂ en présence d'extraits de suc gastrique de sujet humain non Biermérien, ou d'extraits de muqueuse gastrique de porc.

Le traitement par la vitamine B₁₂ n'est jamais définitif et le malade guéri reste tributaire d'une vitaminothérapie continue qui lui évite les fréquentes rechutes.

C'est donc l'absence, dans le suc gastrique du Biermérien, d'un élément essentiel à l'absorption de la vitamine B₁₂ qui est à l'origine de l'avitaminose. Comme nous l'avons vu, cet élément, le facteur intrinsèque, est sécrété par les glandes de la muqueuse fundique; il s'agit sans doute des glandes bordantes qui sécrètent également l'acide chlorhydrique; l'atrophie des glandes prive le Biermérien de facteur intrinsèque et lui interdit ainsi toute absorption alimentaire de vitamine B₁₂.

L'explication de l'apparition des troubles de l'anémie de Biermer est satisfaisante, mais certains faits demeurent encore obscurs: par exemple, alors que des doses moyennes ou faibles de vitamine B₁₂ ne traversent pas la muqueuse digestive du Biermérien, les doses fortes de vitamine (3 000 microgrammes) données par voie buccale sont en partie absorbées par la muqueuse intestinale de ces mêmes sujets et sont capables de corriger l'anémie. L'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ donnée à forte dose se libérerait ainsi de la dépendance du facteur intrinsèque.

On a également observé une indépendance entre l'absorption de la vitamine B₁₂ et l'état de la muqueuse stomacale. Celle-ci est normale dans quelques cas d'anémie de Biermer, chez l'enfant; on ne retrouve dans ces cas, ni achlorhydrie, ni atrophie gastrique (MOLLIN et Coll.: 1955 b - LEIKIN: 1960 - WELCH et Coll.: 1961).

Quoi qu'il en soit, il semble bien que l'absence de facteur intrinsèque soit le fait de l'atrophie gastrique. D'après HERBERT (1959 a), on pourrait reconnaître à la déficience en facteur intrinsèque trois causes:

Une inaptitude héréditaire pour les glandes de l'estomac à sécréter le facteur intrinsèque: ce serait le cas des anémies de Biermer où seul, le facteur intrinsèque est absent du suc gastrique, alors que l'acide chlorhydrique libre et la pepsine se trouvent en quantité normale.

Une facilité héréditaire à présenter une gastrite atrophique, qui serait dans ce cas à l'origine de la déficience en facteur intrinsèque. Mais tous les cas de gastrite atrophique ne donneraient pas ce trouble et seuls quelques sujets présenteraient une mégaloblastose.

L'anémie de Biermer pourrait également être le stade final d'une gastrite inflammatoire dégénérant secondairement en gastrite atrophique. Ce serait relativement rare.

L'attention vient d'être attirée récemment sur la fréquence de l'association des affections de la thyroïde et de l'anémie pernicieuse (TUDHOPE et Coll.: 1960 - 1962 - Mc NICOL: 1961 - WILLIAMS et Coll.: 1962): en effet, la maladie de Hashimoto, le myxœdème de l'adulte et la thyrotoxicose, se retrouvent chez les Biermériens avec une fréquence cinq à dix fois supérieure à celle de ces maladies dans l'ensemble de la population.

D'autre part, l'existence d'anticorps antifacteur intrinsèque humains a fait avancer que l'anémie pernicieuse résulterait d'une destruction auto-immune de la muqueuse gastrique, de la même façon qu'un processus analogue peut atteindre la glande thyroïde et aboutir au myxœdème. Il existerait, dans les malades d'une même famille, des relations cliniques et sérologiques importantes entre les processus d'auto-immunité gastrique et thyroïdienne. Il se peut donc que ces maladies résultent d'une altération génétique en ce qui concerne la reconnaissance par l'organisme des constituants de ses propres organes.

Dans le cas où cette hypothèse se confirme, la genèse de la gastrite de l'anémie pernicieuse et du même coup la pathogénie de la maladie de Biermer apparaîtront sous un jour nouveau.

**Le test de l'intestin de cobaye
dans la maladie d'Addison Biermer**

On a recherché le facteur intrinsèque par le test des dilutions de l'intestin de cobaye chez cinquante-quatre Biermériens. Le recueil du suc gastrique a été réalisé chez les malades, soit en début de traitement, soit en période de rémission, soit en période de rechute, le traitement ne modifiant en rien la valeur de l'examen. Les résultats sont regroupés dans les tableaux des pages suivantes qui comportent :

- 1° Le sexe des malades (F: Femme; H: Homme).
- 2° L'âge de ces malades.
- 3° La valeur de l'anémie au moment de l'examen. G. R.: le nombre de globules rouges par millimètre cube. V. G.: la valeur globulaire et Fe: la valeur du fer sérique en microgrammes pour cent millilitres de sérum.
- 4° Les résultats du myélogramme en pourcentage: P: promégaloïoblastes; mit.: mitoses; M. O.: mégaloïoblastes orthochromatiques; tot.: pourcentage total.
- 5° L'interprétation de la radiographie ou de la gastroscopie.
- 6° L'étude de l'acidité gastrique.
- 7° Autres signes.
- 8° La valeur du test de SCHILLING (T. d. S.).
- 9° Les résultats du test de l'intestin de cobaye avec le suc gastrique pur et des dilutions au 1/4, 1/16 et 1/64 exprimés en coups par minute pour 100 mg d'intestin frais.

Remarquons d'abord que la plupart de ces malades avaient une anémie hyperchrome sévère. Dans la majorité des cas, le myélogramme révélait un pourcentage assez élevé de formes anormales. L'examen radiologique quand

Sexe & Age	ANEMIE			MYELOGRAME						Radio gastrique ou gastroscopie	Sécrétion gastrique	Divers	T. d. S.	Test de l'intestin de cobaye	
	G.R.	V.G.	Fe	P	mit.	ME.	MP.	MO.	Tot.					juin 1/4	1/16 1/64
M 57	3560000	1,01	50	1	1	22	13,5	3,5	41	Radio normale	Achlorhydrie		10 c	17	-
M 56	2250000	1,30	250	2	1	18	20	12	53		Achlorhydrie		0,75%	2	-
F 76	3360000	1,04		1		22	17	1	41	Rigidité de la région antrale	Achlorhydrie		2,53%	9	-
M 75	Anémie					15	5,5	2,5	23	Gastrite Atrophique	Achlorhydrie		4,25%	2	3 34
F 56	1069000	1,45	60				1,5	0,5	2	Gastrite Atrophique	Achlorhydrie		0,49%	4	7 10 10
F 81	1900000	1,10							0,1		Achlorhydrie			20	-
M 33	2000000	1,35		Rares Mégalo blastes							Achlorhydrie			5	-
	Anémie hyperchrome			Présence de Mégalo blastes							Achlorhydrie			15	-
	Anémie hyperchrome			Présence de Mégalo blastes										8	-
F 53	1 150000	0,9							2,4		Achlorhydrie	Langue décapitée		25	-
F 62	1750000								0,1		Achlorhydrie			30	-

Sexe & Âge	ANEMIE			NYELOGRAMME			Radio gastrique ou gastroscopie	Sécrétion gastrique	Divers	T.d.S.	Test intestin de Cobave	
	GR	VQ	Fe	1. Mit	ME	MP	MO	Tot.			Par	1/4 1/16 1/64
F - 58	1780000		3					146	Troubles digestifs		13	9 - -
F - 55	540000	0,94	25						Achlorhy- drie		5	6 12 26
M - 64	3700000	1			2	3	5		Glossite		13	- - -
F - 62	2000000	0,92			5	6,5	6,5	12		4,08%	0	1 - -
M - 50	2700000	0,98	150	Absence de mégalo- blastes			Image de gastri- te atrophique		Troubles digestifs	20 %	35	30 - -
M - 65	3650000	1,26							Achlorhy- drie		1	4 - -
M - 85	1400000			Absence de mégalo- blastes			Atrophie gastrique		Troubles digestifs		1	- - -
M - 73	1320000	1,06		1,5	1,39	6,5	3	55	Troubles digestifs nerveux		4	9 3 -
F	Anémie			Présence de mégalo- blastes					Hernie diaphrag- matique		11	9 14 16
M - 53	2700000			Tenance mégalo- blastique					Ulçère duodénal traité	1,2%	2	10 26 -
F - 56	1250000	1,2							Lanque décapil- lée.	0%	2	8 18 -

Sexe & Age	ANEMIE			MYELOGRAME							Radio gastrique ou Radioscopie	Secretion gastrique	Divers	T.d.S.	Test de l'intestin de Colave			
	G.R.	V.G.	Fe	P	Mit	MB	MP	MO	Tot	Pur					1/4			
F	Anémie			Moelle riche en mégaloblastes											28	-	-	
F 52	1450 000			Moelle riche en mégaloblastes								Achlorhy-drie	Glossite		38	19	22	
F 70	730 000	2							29	Atrophie gastrique		Achlorhy-drie			30	41	23	
F 76	1910 000	1,32							32			Achlorhy-drie		5 A	12	14	20	
M 44	2600 000	1	300	6	1	17	25	9	67				Glossite		0	9	0	
F 62	4000 000	1,03	190	7	1	18	20	9	55			Achlorhy-drie		0,16%	19	6	-	
M 40	1900 000	1,15		10		18	20	17	65				Troncles digestifs Glossite	3,30%	1	3	38	
M	2750 000	1,07		1	5	4	9	19		Radiogra-phie normale		Achlorhy-drie		0,29%	6	9	-	
M	Anémie			Présence de mégaloblastes												4	7	12
M 77	1660 000	1,02		3	1	15	20	23	62	Radiographie normale		Achlorhy-drie		1,4%	11	7	10	
M 80	1880 000	1,17		2	0,5	20	24	7,5	59,5	Petite anoma-lie de la grosse tubé-rosité		Achlorhy-drie		1,1%	10	5	14	
F 79	1200 000	1,08		Très nombreux méga-loblastes							Radiographie normale	Achlorhy-drie	Syndrôme parkin-sonien	5,5%	15	9	12	

Sexe & Age	ANEMIE			MYELOGRAME							Radio gastrique ou gastroscopie	Sécrétion gastrique	Divers	T. d. S.	Test de l'intestin de Cobave								
	GR	VG	Fe	P	Mit	MB	MP	MO	Tot	Par 11/4					11/16	11/64							
M 82 ans	1 010 000	1,15		0,5	1,5	8	1,15	12,5	34,5			Achlorhy- drie		7,8%	10	0	3	10					
M 65 ans	2 600 000	1,05		1		10	6	2	19			Achlorhy- drie	Syndrome neuro- anémique	2,10%	0	0	0	7					
M	1 880 000	1,06	30	1	1	2,2	13,5	3,5	40		Radiographie normale	Achlorhy- drie	Malade diabéti- que		17	-	-	-					
F 72 ans	3 420 000	1,13		Très nombreux mégalo blastes									Achlorhy- drie	Syndrome neuro- anémique		13	16	10	14				
M 59 ans	2 170 000	1,25		0					48			Achlorhy- drie		0%	3	4	7	4					
M	Anémie			Présence de mégalo blastes									Achlorhy- drie	Africain		21	6	24	12				
F 64 ans	1 780 000	1,21	31	Présence de mégalo blastes								Transit gastro- duodénal normal	Achlorhy- drie		0%	10	5	8	3				
F 82 ans	1 110 000	1	259	Absence de mégalo blastes								Radiographie normale	Achlorhy- drie		0%	41	8	15	6				
-	Anémie Hyperchrome																			17	17	25	20
F 66 ans	2 900 000	1,06	90	0	0	2	1	1	4		Radiographie normale	Achlorhy- drie			21	14	12	25					
F 62 ans	3 220 000	1,12		2,5	-	9	8	6	25,5		Radiographie normale	Langue décapil- lée			10	8	13	7					

Sexe & Age	ANEMIE			MYELOGRAME							Radio gastri- que ou gastro- copie	Secrétion gastrique	Divers	T.d.S.	Test de l'intestin de Osbeve			
	G.R.	VG	Fe	P	Mit	XB	MP	EO	Total	Pur					1/4	1/16	1/24	
M	3 000 000	0,93	56	Présence de mégalo- blastes								Achlorhy- drie	Ulçère traité médica- lement	0,2%	17	10	10	7
F	2 510 000	1,20	60	4	-	25	14	12	55	Transit gas- trochod'nal normal		Achlorhy- drie		6,2%	3	5	6	6
F 67	1 600 000	0,09	-	2	0,5	25	17	20	64,5	Gastrite interstitielle chronique		Achlorhy- drie		-	7	10	14	21
F 47	1 550 000	0,90	50	2	0,5	18	9	6	41,5			Achylie achlorhy- drie		2,4%	11	15	19	14
M 59	2 800 000	0,96	130	2	5				7	Radiographie normale		Achlorhy- drie	Diabète Syndrome neuro- anémique	-	8	18	20	24
F 65	2 900 000	1,20	110	Nombreux mégalo- blastes							-	Achlorhy- drie	Syndrome neuro- anémique	-	6	10	20	24
F 59	Anémie	1,33		Nombreux mégalo- blastes							-	Achlorhy- drie	Troubles digestifs	5,6%	0	2	2	1
F 81	4 100 000	0,91		-	-	-	-	-		Cancer gastrique		-	Etude du suc gas- trique après traite- ment	-	9	12	27	20
F 66	4 700 000	0,95		1	99	0	0	0	1	Cancer gastrique		Achlorhy- drie	Etude du suc gas- trique après traite- ment	-	3	10	18	17

il a été fait, était normal, alors que la gastroscopie décelait souvent des signes de gastrite atrophique. L'achlorhydrie histamino-résistante de la sécrétion gastrique était de règle.

A de très rares exceptions près, les taux de facteur intrinsèque pour les diverses concentrations de suc gastrique n'excèdent pas la fixation de base. Ces sucs gastriques ne contiennent donc pas de facteur intrinsèque. Bien plus, la fixation de base (qui correspond à la fixation normale de vitamine B₁₂ en l'absence de facteur intrinsèque et qui est égale à 30 coups par minute pour 100 milligrammes de tissu frais) est inhibée, de nombreux résultats étant inférieurs à 5 coups par minute (Tableau 7).

TABLEAU 7

Noms	Fixation	Noms	Fixation
—	—	—	—
M. C...	2	A. K...	2
M. V...	2	F. R...	2
J. F...	4	G. M...	0
J. B...	5	L. D...	1
M. P...	5	M. ...	4
M. D...	0	C. C...	0
E. M...	1	G. L...	3
M. P...	1	J. L...	3
S. P...	4		

Fixation de la vitamine B₁₂ CO₆₀
(en coups/minute/100 mg de tissu frais)

Il semble donc que le suc gastrique de certains Biermériens contient des inhibiteurs anti-facteur intrinsèque. La présence de tels facteurs dans le suc gastrique a déjà été observée par LI et COLL. en 1959, et par MM. P. NABET et R. WOLFF (P. NABET: 1962 c).

TAYLOR et ses collaborateurs (1961) ont isolé un principe inhibiteur à partir des mitochondries de muqueuse gastrique humaine. Il se pourrait donc qu'il existe des

substances inhibitrices chez certains Biermériens, ces substances annuleraient toute activité en facteur intrinsèque. Si tel est le cas, le problème des facteurs responsables du défaut d'absorption de la vitamine B₁₂ par la muqueuse intestinale des Biermériens serait infiniment plus complexe que ne le laissait prévoir la théorie de CASTLE.

On a comparé les résultats du test de l'intestin de cobaye à ceux obtenus par l'épreuve de SCHILLING (R. WOLFF et Coll.: à paraître) et l'on peut constater que les valeurs trouvées sont tout à fait comparables (Tableau 8).

TABEAU 8

Pur	1/4	1/16	1/64	Test de SCHILLING %
0	1	-	-	4,08
35	30	-	-	20
2	10	26	-	1,2
2	8	18	-	0
12	14	20	25	5
19	6	-	-	0,16
1	3	38	31	3,3
6	9	-	-	0,29
11	7	10	12	1,4
10	5	14	19	1,1
15	9	12	22	5,5
10	0	3	10	7,8
0	0	0	7	2,10
3	4	7	4	0
10	5	9	3	0
41	3	15	6	0
17	10	10	17	0,2
3	5	6	16	6,2
11	15	19	14	2,4
17	-	-	-	10
2	-	-	-	0,75
9	-	-	-	2,33
2	3	3	34	4,25
4	7	10	10	0,49
0	2	2	1	5,6

*Comparaison entre le test de SCHILLING et l'épreuve de l'intestin de cobaye
(en coups par minute pour 100 mg de tissu frais).*

Les résultats obtenus avec le test de l'intestin de cobaye dans l'anémie pernicieuse concordent avec les résultats de toutes les techniques mises en œuvre pour déceler le facteur intrinsèque du suc gastrique. Ils aboutissent à la notion classique de l'annulation de l'activité intrinsèque du suc gastrique de Biermérien. Ce test constitue donc un élément important pour confirmer le diagnostic d'anémie pernicieuse et pour distinguer cette affection des autres avitaminoses B₁₂ dont l'étiologie est tout autre que celle de cette maladie. L'emploi de ce test nous paraît particulièrement important actuellement dans le diagnostic de la maladie pernicieuse. En effet, de nos jours, les malades qui prennent des « fortifiants » à base de vitamine B₁₂ et d'extraits hépatiques sont nombreux et les symptômes classiques de l'anémie de Biermer deviennent de plus en plus frustes; seule la mise en évidence de l'absence de facteur intrinsèque permet le diagnostic et la conduite d'un traitement qui évitera au malade de graves rechutes.

LES ANÉMIES PARABIERMÉRIENNES ET LES AUTRES ANÉMIES

Le tableau clinique de l'anémie pernicieuse a pour origine une avitaminose B₁₂. Celle-ci, dans la maladie d'Addison-Biermer, est le fait de l'insuffisance en facteur intrinsèque du suc gastrique. Mais l'absence de facteur intrinsèque n'est pas toujours responsable de la carence en vitamine B₁₂ et l'on rencontre un certain nombre d'affections qui se présentent avec des signes cliniques identiques à ceux de la maladie d'Addison-Biermer et où la sécrétion de facteur intrinsèque semble normale; les auteurs réservent en général à ces affections les termes d'anémies mégalocytaires non Biermériennes, ou d'anémies parabiermériennes ou d'anémies perniciosiformes. Les causes de la mégaloblastose des anémies parabiermériennes sont multiples et variées.

Les carences d'apport ne portent en général pas exclusivement sur la vitamine B₁₂, mais également sur d'autres

éléments, dont le rôle est important dans l'hématopoïèse : le fer et l'acide folique. C'est ainsi que l'anémie macrocytaire du petit enfant est exclusivement due à une carence en acide folique, le lait apportant la vitamine B₁₂ en quantité suffisante, mais étant totalement dépourvu d'acide folique. L'anémie du lait de chèvre (LAUNAY et BERNARD : 1951, GLANZMANN : 1926) entre également dans ce cadre et l'administration d'acide folique permet seule la guérison.

L'anémie macrocytaire de la grossesse, fréquente dans les pays anglo-saxons, résulterait également d'une insuffisance d'apport aggravée, dans les derniers mois de la gestation, par des besoins accrus ; mais certains auteurs ont évoqué à son sujet, « un trouble temporaire » de la sécrétion gastrique (GAZAL : 1949), l'achylie pouvant se rencontrer ; d'autres penchent pour un défaut d'utilisation des facteurs hématopoïétiques (BADENOCH et Coll. : 1955).

Les anémies mégalo-blastiques nutritionnelles sont en général beaucoup plus fréquentes dans les pays où la pauvreté, l'ignorance, la coutume et les tabous entraînent un déséquilibre alimentaire. Cependant, on n'a pas encore distingué la part des perturbations dues à l'avitaminose B₁₂ de celle qui est causée par la carence en acide folique.

Les carences d'absorption : l'avitaminose peut également résulter d'une perturbation du mécanisme de l'absorption intestinale. Ces avitaminoses sont alors groupées dans le vaste domaine des syndromes de malabsorption (Malabsorptions, Rev. Prat. : 1965) parmi lesquels on peut citer : la sprue tropicale, la sprue nostras, les stéatorrhées idiopathiques d'origine intestinale, la sténose du grêle, la maladie coeliaque (DUBOIS : 1939). Chacune de ces affections a sa propre individualité clinique, mais les carences en vitamine B₁₂ et en acide folique se manifestent par une anémie, celle-ci n'étant d'ailleurs pas toujours hyperchrome. Le myélogramme est rarement perturbé et la glossite reste fréquente.

Les carences résultant d'une compétition entre le parasite et l'hôte pour la vitamine B₁₂ et l'acide folique:

Un cestode, le botriocéphale, hôte de l'intestin grêle de l'homme, fixe la vitamine B₁₂ alimentaire. On a montré qu'une anémie survenait chez les sujets chez qui le parasite siégeait au niveau du jéjunum; que cette anémie disparaissait avec le déplacement du ver, et que lorsque le parasite occupait son siège le plus fréquent, l'iléon, il n'y avait aucun trouble de l'hématopoïèse. Il semble donc bien que lorsque le parasite est localisé avant la zone d'absorption intestinale de la vitamine B₁₂, il fixe la vitamine alimentaire et prive ainsi l'organisme de celle-ci. Il s'agit là d'un phénomène bien particulier de carence par compétition pour une substance donnée entre un parasite et son hôte.

Il existerait également une compétition bactérienne pour la vitamine B₁₂ dans les anémies de la diverticulose intestinale et les anémies des rétrécissements intestinaux (BERNARD: 1948).

Les anémies d'utilisation de la vitamine B₁₂ et de l'acide folique:

On a décrit les anémies mégaloblastiques chez les malades traités pendant de longues périodes par des anticonvulsivants: diphényl-hydantoïne, mysoline, et plus rarement métho-phénobarbital et amytal. Ces anémies résistent à la vitamine B₁₂ et seul l'arrêt du traitement anticonvulsivant ou l'administration de doses importantes d'acide folique rétablit une hématopoïèse normale. Ces anémies résulteraient vraisemblablement d'un trouble du métabolisme de l'acide folique (CHANARIN et Coll.: 1958, GIRWOOD: 1959).

Des poussées temporaires de mégaloblaste au cours d'anémies hémolytiques chroniques: sphérocytose, thalassémie, hémoglobinoopathies, se rencontrent parfois. L'absorption de vitamine B₁₂ est normale et son effet thérapeutique nul.

Les anémies réfractaires hyperchromes. — L'anémie achrestique de WILKINSON (ISRAELS: 1936) se présente

tout d'abord comme une anémie de Biermer, avec une anémie intense et un myélogramme riche en mégalo blastes et en formes anormales. Cependant, la sécrétion gastrique est normale et les extraits de suc gastrique de ces malades sont très actifs sur l'anémie de la maladie de Biermer. Le caractère essentiel de cette affection est qu'elle résiste à toute thérapeutique, et que seules les transfusions répétées prolongent le malade.

Dans la phase précoce de la maladie de Di Guglielmo, on observe une intense prolifération érythroblastique et mégalo blastique avec une anémie sanguine importante. La mégalo blastose est rebelle à la vitamine B₁₂ qui est d'ailleurs présente à un taux sérique normal ou élevé chez ces malades.

LE FACTEUR INTRINSÈQUE DANS LES ANÉMIES PARABIERMÉRIENNES

Le tableau clinique des anémies perniciosiformes est beaucoup plus fruste que celui de l'anémie d'Addison-Biermer. Celle-ci en effet s'installe beaucoup plus lentement et la carence en facteurs hématopoïétiques est beaucoup plus intense; c'est ainsi qu'elle provoque dans sa forme classique le triple syndrome: hématologique, digestif et nerveux, qui n'est que rarement rencontré dans les autres anémies. La clinique permet donc déjà une certaine orientation du diagnostic. L'interrogatoire et les examens biologiques de pratique courante apportent également des renseignements utiles sur les causes possibles de l'anémie: traitement aux hydantoïnes, parasitose, syndrome de malabsorption. Mais il n'est pas possible d'éliminer la maladie de Biermer sans l'aide d'une étude du facteur intrinsèque. Le test de SCHILLING simple lui-même, ne donne pas la clef du diagnostic dans le cas des syndromes de malabsorption, car l'absorption de vitamine B₁₂ est basse, sinon nulle. Il doit donc être répété en présence de facteur intrinsèque. Le facteur intrinsèque a été étudié à l'aide du test clinique de l'intestin de cobaye dans quelques cas d'anémies parabiermériennes.

RÉSULTATS

Anémies de la grossesse. — Deux cas d'anémie survenant au cours d'une grossesse ont pu être examinés. Chez Mme V. G., un myélogramme a décelé une mégaloblastose.

Test clinique de l'intestin de cobaye

Nom	Pur	1/4	1/16	1/64
—	—	—	—	—
J. N.	81	83	81	38
V. G.	34	47	44	17

Dans le premier cas, l'activité en facteur intrinsèque est normale, dans le second, on remarque une baisse nette de l'activité. Cette étude de deux cas ne permet pas de conclure; on peut cependant rapprocher ces résultats de ceux de LUHBY, COOPERMAN et Coll. (1958) qui ont constaté à l'aide du test de fixation hépatique une diminution de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ au cours de la gestation. Le problème reste posé de l'existence de femmes chez qui la sécrétion en facteur intrinsèque diminuée serait suffisante à l'état normal, mais incapable de satisfaire l'accroissement des besoins au cours de la grossesse.

Anémies mégaloblastiques des syndromes de malabsorption

On a recherché l'activité en facteur intrinsèque de sept sujets qui présentaient un syndrome de malabsorption (Tableau 9).

La recherche directe du facteur intrinsèque dans ces quelques syndromes de malabsorption permet de remarquer que dans la plupart des cas le facteur intrinsèque était présent dans le suc gastrique. Ces résultats sont comparables aux résultats obtenus avec les autres tests d'étude du facteur intrinsèque. Le double test de SCHILLING par exemple, permet de remarquer que dans les syndromes de malabsorption, l'apport de facteur intrinsèque ne facilite

TABLEAU 9
Le facteur intrinsèque dans les syndromes de malabsorption.

NOM & Age	A N E M I E	V. G.	MYELOGRAME	Liquide Gastrique	C L I N I Q U E	Test de l'intestin de Cobaye			
						Pur	1/4	1/16	1/64
M.E.	Anémie	-	Moelle mégaloblastique	Pas d'achlor- hydrie	Syndrome de malabsorption	179	143	63	23
R.M. 36 ans	3500 000	1,14	Tendance mégaloblastique	Pas d'achlor- hydrie	Glossite, engourdissement des extrémités, non curable par la vitamine B 12	107	47	35	59
T.J. 9 ans	3500 000	-	Moelle mégaloblastique	Pas d'achlor- hydrie	Maladie coeliaque - Retard du développement staturo- pondéral. Selles fréquentes importantes et riches en graisse. Guérison après suppression des graisses.	135	179	68	29
G.M. 20 ans	Anémie	-	Moelle mégaloblastique	-	Syndrome de malabsorption	79	90	99	87
D.J. 70 ans	800 000	-	Moelle mégaloblastique	Achlorhy- drie	Résistance des mégaloblas- tes à la vitaminothérapie	82	42	29	38
M.R. 32 ans	4250 000	0,95	Moelle mégaloblastique	Pas d'achlor- hydrie.	Sprue. Nombreuses selles liquides. Asthénie. Amal- grissement important.	28	17	5	33
G.C. 7 ans	Anémie	>1	Moelle mégaloblastique	Acidité variable	Muqueuse gastrique normale	25	18	29	27
						3	12	29	30

pas le passage de la vitamine B₁₂ dans la muqueuse intestinale, le défaut d'absorption de vitamine ne dépend pas d'une carence en facteur intrinsèque.

Cependant, le test clinique de l'intestin de cobaye apporte des données supplémentaires; en effet, le fait que dans les épreuves usuelles, l'administration simultanée de facteur intrinsèque et de vitamine B₁₂ ne modifie pas la non réceptivité de l'intestin pour la vitamine B₁₂, ne permet pas forcément de conclure à la présence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique. Dans les deux cas qui sont rapportés ci-dessous, on a noté l'absence d'activité en facteur intrinsèque.

GEO... Claudine, 7 ans :

Anémie hyperchrome mégaloblastique chez une jeune enfant. Le test d'absorption est nul et n'est pas modifié par le facteur intrinsèque. Une biopsie apporte la certitude d'une muqueuse gastrique normale. Le suc gastrique est acide. On pense donc qu'il s'agit d'un syndrome de malabsorption. Cependant, au cours d'une nouvelle hospitalisation, on remarque que les tubages gastriques révèlent des quantités tout à fait variables d'acide chlorhydrique, certains prélèvements étant même dépourvus d'acidité.

Deux échantillons de suc gastrique acide de ce sujet ne présentaient aucune activité en facteur intrinsèque.

MIO... Roger, 32 ans :

Depuis deux ans, augmentation en nombre et en volume, des selles, avec diarrhée graisseuse importante, amaigrissement d'environ 8 kg et asthénie intense. Rien de bien particulier à l'examen clinique. Les données biologiques permettent d'éliminer une parasitose. Le bilan pancréatique est satisfaisant. Le transit intestinal est augmenté, les électrolytes normaux, les protides totaux abaissés. On découvre une légère anémie normochrome et la moelle présente un aspect mégaloblastique. Le suc gastrique est normalement acide. Le taux du Schilling est de 1,95 % (P. MICHON et Coll., 1962).

Le malade a été traité par le cortancyl, la foldine et la vitamine B₁₂.

Le suc gastrique de ce sujet ne présente aucune activité en facteur intrinsèque.

L'existence de ces anémies mégaloblastiques non Biermériennes dans lesquelles on constate une absence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique démontre la com-

plexité des problèmes posés par les anémies parabiermé-
riennes. S'agit-il de sujets prédisposés où la sécrétion de
facteur intrinsèque est inconstante et qui développent une
anémie au cours d'une agression S'agit-il de Biermériens
chez qui se développe un syndrome de malabsorption? La
carence en facteurs hématopoïétiques développe-t-elle se-
condairement une insuffisance de sécrétion de facteur in-
trinsèque? Le peu de cas dont nous disposons ne nous
permet pas de conclure.

Anémie par carence en acide folique

GER... Denise, 36 ans — Terrain éthylique certain.

A l'âge de 32 ans la malade présente une anémie hyperchrome
et le diagnostic d'anémie pernicieuse est alors porté. Un traitement
à base de vitamine B₁₂ est institué et apporte une rémission. Mais
le traitement est abandonné et la malade rechute. Une injection de
100 microgrammes de vitamine B₁₂ tous les deux jours est sans
effet, mais l'anémie disparaît à l'aide de la foldine. On substitue
alors la vitamine B₁₂ à l'acide folique, nouvelle rechute en quatre
mois avec anémie à 2 800 000 G. R. Un nouvel essai thérapeutique
à base de foldine permet d'obtenir une guérison en deux mois. Le
tubage à l'histamine n'a jamais décelé d'achlorhydrie complète.

Cette malade n'avait pas de facteur intrinsèque dans le
suc gastrique, il se peut qu'il s'agisse d'une carence en
acide folique dans une anémie pernicieuse.

*Anémies résultant d'un défaut d'utilisation de l'acide
folique.* — On a recherché le facteur intrinsèque dans le
suc gastrique de trois sujets épileptiques, traités par des
anticonvulsivants pendant de nombreuses années, et qui
présentaient une anémie mégalo-blastique (Tableau 10).

Nous avons été surpris par ces résultats; en effet, il est
reconnu de façon classique que ces anémies résultent d'un
défaut d'utilisation de l'acide folique (CANARIN et Coll.:
1958, GIRWOOD: 1959, BERLY et Coll.: 1955, CALVERT:
1958). HAWKINS et MEYNELL (1958) supposent que les
médications anticonvulsivantes jouent un rôle compétitif
à l'égard de certains enzymes cellulaires dans les tout pre-
miers stades de l'hématopoïèse; certains sujets seraient

sensibles à la thérapeutique vitaminique, d'autres à l'acide folique. MARSHALL CHALMERS et Coll. (1954) publient un cas d'anémie au cours d'un traitement anticonvulsif chez un malade qui avait une achlorhydrie et dont l'anémie a régressé sous l'influence de la vitamine B₁₂.

TABLEAU 10

Nom	Cause de l'anémie	Test de l'intestin de cobaye			
		Pur	I/4	1/16	1/64
B. R.	Hydantoïnes	11	11	15	17
O. J.	Hydantoïnes	19	14	27	33
T. A.	Mysoline	41	40	42	44
		81	85	92	40

*Le facteur intrinsèque dans trois cas d'anémie,
après thérapeutique anticonvulsivante.*

Parmi tous les sujets traités par les antiépileptiques, peu présentent une anémie mégalo-blastique, on est en droit de se demander si ces anémies ne surviennent pas chez des sujets prédisposés, chez qui, dans certains cas, la sécrétion de facteur intrinsèque est inconstante. Il se pourrait peut-être aussi que le défaut de facteur intrinsèque soit secondaire à une déviation du métabolisme des facteurs hématopoïétiques.

Le facteur intrinsèque dans les anémies hypochromes

LES ANÉMIES HYPOCHROMES FERRIPRIVES

On retrouve fréquemment dans les anémies hypochromes ferriprives deux éléments du tableau clinique de l'anémie de Biermer : l'anémie et l'achlorhydrie.

BIGGS et Coll. ont étudié en 1962 chez des rats soumis à une carence en fer l'absorption de la vitamine B₁₂ à l'aide du test d'excrétion urinaire et du bilan fécal. L'ab-

TABLEAU 11

Le facteur intrinsèque dans les anémies hypochromes ferriprives.

NOM	AGE	ETAT DE L'ANEMIE	FER *	MYELOGRAMME	ACIDITE GASTRIQUE	TEST INTESTIN. DE COBAYE			
						Pur	1/4	1/16	1/64
S.M.	76	2.100.000	60	-	Achlorhydrie	49	83	60	71
B.E.	72	2.900.000	25	Normal	Achlorhydrie	22	4	21	11
C.M.	16	1.800.000	12	Normal	-	86	113	71	44
W.M.	-	2.650.000	35	Réaction érythro-cytaire	-	197	286	126	50
B.J.	-	2.500.000	70	Normal	Hypochlorhydrie	208	199	74	43
T.Y.	39	2.150.000	35	Normal	Achlorhydrie	74	123	45	28
P.O.	41	1.200.000	30	Réaction érythro-cytaire	Achlorhydrie	109	147	116	54
C.L.	38	4.230.000	40	Normal	Normale	99	124	38	30
E.M.	42	3.860.000	75	Normal	Normale	173	227	65	39
J.C.	17	2.200.000	44	-	Normale	210	197	151	41
R.S.	48	2.500.000	34	Normal	Achlorhydrie	107	110	89	78
R.M.	3	2.700.000	20	Normal	Hypochlorhydrie	20	-	-	-

* FER = Fer sérique microgrammes pour 100 ml.

sorption de vitamine radioactive est diminuée chez ces rats carencés en fer, si on la compare à l'absorption chez des rats normaux, non privés de fer.

MM. R. WOLFF et P. NABET en 1962 (P. NABET: 1962 a), en étudiant la valeur en facteur intrinsèque du suc gastrique chez cinq sujets atteints d'anémie ferriprive, ont trouvé une absence de facteur intrinsèque dans un cas, et une baisse variable dans quatre cas.

A l'aide du test clinique de l'intestin de cobaye, cette étude a été reprise chez douze sujets (tableau 11). Une sécrétion normale a été retrouvée chez dix sujets, alors que deux sujets ne sécrétaient pas de facteur intrinsèque.

LES ANÉMIES HYPOCHROMES HYPERSIDÉRÉMIQUES

Le facteur intrinsèque a été également recherché dans deux cas d'anémie hypochrome hypersidérémique (Tableau 12).

Chez ces deux sujets, la sécrétion du facteur intrinsèque est normale.

TABLEAU 12

NOM	AGE	Etat de l'anémie	Fer sérique microgrammes pour 100 ml	Diagnostic pathologique	Test de l'intestin de cobaye			
G. J.	4	1 900 000	214	hypersidéro-rose sidéro-achrestique	133	132	76	30
L. R.	46	1 850 000	207	trouble de l'incorporation du fer dans l'hémoglobine	142	73	80	16

*Le facteur intrinsèque
dans les anémies hypochromes hypersidérémiques.*

Le facteur intrinsèque dans les autres anémies

Le facteur intrinsèque a été recherché dans deux cas d'anémie hyperchrome, un cas d'anémie hémolytique d'étiolo-

logie indéterminée, un cas d'anémie de MINKOWSKI-CHAUFFARD et trois thalassémies (Tableau 13).

TABLEAU 13

Le facteur intrinsèque dans d'autres anémies.

NOM	AGE	Diagnostic	Test de l'intestin de cobeye			
			pur	1/4	1/16	1/64
T. G.	—	Anémie hyperchrome avec achylie totale	9	8	21	24
F. Y.	—	Anémie hyperchrome avec moelle macrocytaire sans mégalo-blastose	75	96	80	57
N. F.	68	Anémie hémolytique d'origine indéterminée	147	101	132	65
D. D.	4 mois	Anémie de Minkowski-Chauffard	22	29	22	28
B. A.	25	Thalassémie	161	290	157	62
K. M.	33	Thalassémie	151	129	63	34
B. A.	—	Thalassémie	121	142	96	33

L'activité a été retrouvée nulle chez un enfant de quatre mois atteint de maladie de MINKOWSKI-CHAUFFARD et chez un sujet présentant une anémie hyperchrome avec achylie totale.

Le facteur intrinsèque et la pathologie gastrique

GASTRECTOMIES TOTALES ET SUBTOTALES

Dès 1929, DENNIG a rapporté un cas d'anémie macrocytaire chez un sujet qui avait subi une gastrectomie neuf ans auparavant.

Mac DONALD et Coll. (1947), à l'aide d'une statistique, concluent que 44 % des sujets ayant subi une gastrectomie totale présentent une anémie mégalo-blastique s'ils ne re-

çoivent aucun extrait de foie. Selon PAULSON et HARVEY (1954), la progression de l'apparition de l'anémie serait la suivante: survenue progressive d'une déficience en fer, avec hypochromie ou orthochromie, suivie, pendant un ou deux ans, d'une anémie macrocytaire qui se transformerait finalement en anémie mégaloblastique.

Cette anémie mégaloblastique résulte du fait que l'exérèse de l'estomac est suivie de l'impossibilité pour le malade de recevoir de la vitamine B₁₂ du milieu extérieur: le malade vit ainsi sur ses réserves et la longue période de latence qui sépare l'apparition de l'anémie de l'opération est due à l'importance de la réserve hépatique en vitamine.

Toutes ces constatations ont été confirmées par les techniques d'étude isotopique; le test d'excrétion fécale (SWENDSEID et Coll.: 1953), le test de SCHILLING (KLAYMAN et Coll.: 1955, PIERONI et Coll.: 1959), permettent de constater un défaut d'absorption intestinale pour la vitamine B₁₂ chez tous ces sujets (GLASS et Coll.: 1955).

Selon Mac LEAN (1957), l'apparition d'anémie mégaloblastique après gastrectomie subtotale serait beaucoup moins fréquente. Cet auteur ayant examiné 1 500 sujets gastrectomisés partiellement n'a retrouvé que neuf cas d'anémies mégaloblastiques; ceux-ci présentent tous au moment de l'exérèse des lésions atrophiques de la muqueuse, associées à l'ulcère ou au cancer. C'est cette atrophie de la muqueuse qui serait responsable de la déficience en facteur intrinsèque. Cette déficience peut également résulter de l'ablation d'une partie importante de la muqueuse sécrétante (GLASS: 1956).

Chez huit sujets ayant subi une gastrectomie subtotale, GLASS (1956) constata une baisse de la fixation hépatique de vitamine B₁₂ radioactive corrigée dans la plupart des cas par l'administration de facteur intrinsèque par voie buccale.

Dans le tableau 14, sont rapportés les résultats du test clinique de l'intestin de cobaye chez douze sujets ayant

TABLEAU 14

Le test clinique de l'intestin de cobaye chez les malades gastrectomisés.

NOM	Date de l'examen	Date de la gastrectomie	Anémie	V. G.	Myélogramme	Acidité gastrique	Schilling	Test intestin de cobaye			
								Pur	1/4	1/16	1/64
B.E.	1961	Gastrectomie totale pour ulcus 1945	2.400.000	0,83	Absence de mégalo blastes	Achlorydrie	2,4 %	18	31	-	-
B.J.	1961	Gastrectomie en 1927	1.500.000	0,91	Absence de mégalo blastes	Achlorydrie	1,2 %	2	3	6	2
C.J.	1961	Gastrectomie en 1944	3.870.000	-	-	Achlorydrie	-	40	24	22	40
C.E.	1963	Gastrectomie subtotale pour ulcère - 1947	2.700.000	1	Asynchronisme de maturation	Achlorydrie	3 %	35	22	15	19
E.M.	1964	Gastrectomie subtotale pour ulcère - 1953	1.600.000	1	Mégalo blastes	Baisse de l'acidité libre	-	1	3	10	17
F.G.	1961	Gastrectomie pour ulcus en 1951		-	-	Achlorydrie	-	236	108	29	22
G.V.	1964	Gastrectomie subtotale pour ulcus duodénale - 1956	1.800.000	0,77	Absence de mégalo blastes	Achlorydrie	-	38	25	17	28

TABLEAU 14

Le test clinique de l'intestin de cobaye chez les malades gastrectomisés (suite).

NOM	Date de l'examen	Date de la Gastrectomie	Anémie	V.C.	Myélogramme	Acidité gastrique	Schilling	Test intestin de Cobaye			
								Pur	1/4	1/16	1/64
K.M.	1962	Gastrectomie totale pour néo - 1954	-	-	-	-	0,4 %	23	20	37	37
M.J.	1961	Gastrectomie totale pour néo - 1948	1.660.000	1,08	Présence de mégalo blastes	Achlorhydrie	-	31	88	48	39
M.H.	1963	Gastrectomie	Anémie	-	Présence de mégalo blastes	-	10,2%	31	29	19	28
N.M.	1961	Gastrectomie pour ulcère 1956	Anémie	-	-	Achlorhydrie	-	19	37	41	28
V.	1961	Gastrectomie totale	Anémie	-	-	-	-	0	32	25	17

subi une exérèse totale ou partielle de l'estomac. On a fait cette étude plusieurs années après l'opération et l'on peut constater qu'à deux exceptions près, l'activité en facteur intrinsèque de ces sujets est fortement abaissée. Cette baisse d'activité a été également confirmée dans quatre cas, par l'épreuve de SCHILLING.

Ces résultats justifient les recommandations de pratiquer une recherche de facteur intrinsèque 2 mois après l'intervention et au cours d'examens semi-annuels pendant dix ans, afin de prévenir chez ces sujets l'apparition d'anémie mégaloblastique (BRODINE et Coll.: 1959).

LE CANCER DE L'ESTOMAC

En 1938, GOLDHAMMER (a) constata, le premier, l'existence d'une anémie macrocytaire dans le cancer de l'estomac. Dans certains cas de cancer, KLAYMAN et Coll. (1955) ont constaté à l'aide du test de SCHILLING une diminution de l'absorption de la vitamine B₁₂.

MM. P. NABET, R. WOLFF et F. BESANÇON (1964), mesurant l'activité en facteur intrinsèque de onze sujets atteints de cancer gastrique avec la méthode du segment intestinal de cobaye, n'ont retrouvé qu'un cas de sécrétion de facteur intrinsèque normale; dans les autres cas, la baisse variait de 30 à 97 %, les fortes baisses coïncidant avec une achlorhydrie.

L'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique de quinze sujets atteints de cancer gastrique a été testée par l'épreuve de l'intestin de cobaye (Tableau 15). On a observé une activité normale dans six cas, nulle dans quatre cas, et variable dans les autres cas, les baisses de sécrétion du facteur intrinsèque étant accompagnées d'une absence d'acide chlorhydrique libre. Deux malades ont particulièrement retenu notre attention:

L. M., 81 ans:

Il y a dix ans, à la suite de la découverte d'une anémie hyperchrome avec 1 400 000 globules rouges, on diagnostique chez cette

Cas	Sexe	Age	Ancienneté des Troubles	Localisation de la Tumeur	METASTASES	Associations Morbides	Hcl libre	Test de l'intestin de Cobave			
								Pur	1/4	1/16	1/64
Y.M.	M	55	1 an	Fundus	foie	amaigrisse- ment V.S. élevée	+	167	161	171	142
M.N.	F	80	2 mois	Antre	adénope- thies coe- liaques	amaigrisse- ment	+	193	224	184	18
C.A.	M	42	-	Antre	?	?	+	94	156	90	37
N.M.	F	59	2 mois	Pylore	foie	amaigrisse- ment, anémie blocage pylo- rique	?	147	101	132	65
R.L.	M	78	3 ans	Antre	?	Anémie Hypochrome mégalo-blasti- que, Syndro- me neuroané- mique	0	135	40	25	34
S.M.	F	68	2 ans	Antre	?	Diabète Catarracte Hernie hiatale	+	185	46	26	6
D.A.	M	64	3 mois	Antre	?	Sténose pylorique Anémie	0	42	61	42	31

TABLEAU 15

Activité en facteur intrinsèque du suc gastrique chez quinze sujets atteints de cancer d'estomac (suite).

100 cas de cancer d'estomac (suite).

Cas	Sexe	Age	Ancienneté des Troubles	Localisation de la Tumeur	METASTASES	Associations Morbides	Hcl libre	Test de l'intestin de Cobaye			
								Pur	1/4	1/16	1/64
L.J.	F	74	1 an	Fundus	?	V.S. élevée anémie - Tumeur ulcérée	0	52	72	50	30
C.	F	52	Découver- te opérati- toire.	Corps	?	?	0	41	34	-	-
P.P.	M	51	3 mois	Corps et Antre	?	Tumeur ulcérée Amaigrissement Anémie.-	0	5	3	7	0
P.J.	M	55	2 ans	Fundus	?	?	0	20	13	11	5
G.J.	M	39	1 an	Pylore	?	Amaigrissement Anémie	+	131	190	95	41
B.A.	M	77	1 an	Petite courbure	?	Lithiase Vésiculaire	+	265	249	86	43
D.C.	F	66	qq.mois	Corps	?	Anémie de Biermer	0	3	10	18	17
L.M.	F	81	qq.mois	Antre	?	Anémie de Biermer ancienne	0	9	12	27	20

femme une anémie de Biermer. Dès cette époque, on remarque à la gastroscopie une certaine rigidité de l'antré. La malade se traite régulièrement. Depuis quelques temps, elle présente une asthénie intense, un amaigrissement important, un subfébricule. Elle ressent des douleurs au creux épigastrique. On découvre à la radiologie une image évocatrice et le néoplasme est confirmé par la gastroscopie. Etant donné l'âge et l'état général de la malade, celle-ci n'a pas été opérée. On n'a pas retrouvé de facteur intrinsèque dans le suc gastrique de cette malade.

D. C., 66 ans :

A présenté récemment une anémie à 1 700 000 globules rouges avec asthénie intense, glossite et diminution des réflexes. La guérison est obtenue par injection intra-musculaire de vitamine B₁₂ et l'hémogramme redevient normal. Cependant, la présence de sang dans les selles de cette malade attire l'attention et l'on découvre au cours d'un bilan digestif complet un néoplasme gastrique. Le suc gastrique de ce sujet était achlorhydrique et le facteur intrinsèque absent.

Chez ces deux sujets, la découverte de l'anémie pernicieuse a précédé l'apparition du cancer gastrique. Rappelons que selon les auteurs, le cancer de l'estomac est 3 à 21 fois plus fréquent chez les sujets atteint d'anémie de Biermer que chez les non Biermériens.

La dégénérescence cancéreuse de la muqueuse gastrique de certains Biermériens, et les perturbations de la sécrétion du facteur intrinsèque dans quelques cas de cancer gastrique, indiquent qu'il doit certainement exister un lien entre l'anémie de Biermer et le néoplasme gastrique. Selon SURALA et Coll. (1960), ce lien serait le terrain de gastrite atrophique, celle-ci évoluerait, soit vers l'anémie de Biermer et dans ce cas la sécrétion du facteur intrinsèque serait tarie, soit vers le néoplasme, le taux de facteur intrinsèque demeurant alors normal. En fait, il est vraisemblable que dans certains cas il existe une intrication plus ou moins importante des deux évolutions, certains Biermériens évoluant vers le cancer, et certains cancéreux présentant une sécrétion en facteur intrinsèque plus ou moins réduite et parfois nulle.

LES GASTRITES

F. BESANÇON, en 1955, en comparant les biopsies pratiquées chez 50 Biermériens et dans 19 gastrites atrophiques ordinaires (sans signes biermériens, ni avitaminose B₁₂), montre que l'atrophie gastrique du Biermérien n'a d'original que son extension, son ancienneté, sa plus grande homogénéité et son irréversibilité. La biopsie gastrique ne saurait donc être utilisée comme élément valable de diagnostic différentiel. En ce qui concerne le caractère anatomo-pathologique de la lésion et sa symptomatologie digestive, les deux affections sont voisines l'une de l'autre : c'est pourquoi certains auteurs ont été tentés d'étudier la sécrétion du facteur intrinsèque dans la gastrite atrophique banale.

En utilisant le test de SCHILLING, SIURALA et NYBERG (1957) ont étudié l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ chez des sujets atteints de gastrite atrophique. Ils ont ainsi observé que la sécrétion de facteur intrinsèque était plus ou moins perturbée et que cette perturbation était d'autant plus importante que l'état de la gastrite était plus avancé. Dans le cas de gastrite atrophique totale, la sécrétion était souvent très abaissée et parfois nulle, alors qu'elle restait normale dans le cas de gastrite superficielle.

Etudiant l'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique chez 11 malades atteints de gastrite chronique atrophique d'origine éthylique, M. R. WOLFF et Coll. (1963 b) ont retrouvé une activité nulle chez un seul malade, les dix autres présentant une activité plus ou moins diminuée par rapport au taux normal.

Une étude de l'activité en facteur intrinsèque chez quatorze sujets atteints de gastrite, rapportée dans le présent travail (Tableau 16) a permis de relever dix cas d'activité normale, deux cas d'activité abaissée et deux cas de valeur nulle. L'absence de toute anémie chez les sujets dont l'activité en facteur intrinsèque est diminuée montre que chez ces sujets une activité, même réduite assure un

TABLEAU 16

Le facteur intrinsèque dans les gastrites (Etude de 14 cas).

NOM	Sexe & Age	CLINIQUE	Examen Radiologique	Gastros- copie	Biopsie gastrique	Acidité libre	Test Clinique Intestin de Cobave			
							Pur	1/4	1/16	1/64
G.M.	F	Traitée pour gastrite depuis plusieurs années	-	-	-	0	20	24	24	21
A.J.	H 60	Ethylique traité en 1956 pour cirrhose du foie et délirium	-	-	-	0	53	61	70	29
B.G.	H 64	Ethylique - insuffisance hépatique	Rigidité de l'an- tre et de toute la petite cour- bure	Pas d'image de néoplasme	Signes de gastrite	0	152	80	29	28
C.O.	H 49	Ethylisme et accès confuso-oniriques	Hypotonie gas- trique - retard à l'évacuation	-	-	diminué	137	189	85	60
D.A.	H 60	Ethylique - crise de délirium	-	-	-	0	174	179	69	29
G.P.	H 53	Cirrhose éthylique	-	-	Signes de gastrite atrophique	?	46	109	51	45
L.M.	F 50	Cirrhose éthylique et tabés	-	-	-	0	140	230	-	-
M.A.	H 31	Ethylique - anorexie aux graisses	Rigidité de la région antrale	Région antra- le atone	Gastrite subchronique à tendance atrophique	0	100	133	47	18
M.N.	H 53	Cirrhose - délirium	Hypotonie gas- trique - retard à l'évacuation	-	-	0	13	18	23	18
N.L.	H 71	Anorexie élective aux graisses - Anémie à 3600000 VG = 0,96	-	Gastrite atrophique	Gastrite intersti- tielle sub- aigue à ten- dence atro- phique	0	154	212	194	29

TABEAU 16
Le facteur intrinsèque dans les gastrites (Etude de 14 cas) (suite).

NOM	Sexe	Age	CLINIQUE	Examen radiologique	Biopsie gastrique	Acidité libre (du suc gastrique)	Test clinique de l'intestin de cobaye			
							Pur	1/4	1/16	1/64
W. Luc	H	59	Ethylique-bronchiteux chronique	Hypertrophie des plis au niveau de la grande courbure	-	0	189	68	25	11
S. A.	H	58	Ethylisme chronique	Estomac distendu	-	0	83	162	91	36
T. L.	H	50	Hématémèse importante. Anémie à 3.250.000 V.G. = 0,95	Bulbe irrégulier Pas d'ulcère	Gastrite subaiguë intense à tendance atrophique avec régres- sion des éléments glandulaires	diminuée	83	162	91	36
V. G.	H	65	Ethylisme	Aspect de gastrite	-	diminuée	54	45	22	17

ravitaillement suffisant en vitamine B₁₂. Quant aux sujets dont la sécrétion du facteur est annulée et chez lesquels on ne retrouve pas d'anémie macrocytaire, il est possible, par analogie avec le caractère tardif de l'apparition d'une anémie pernicieuse après gastrectomie, que cet état ne constitue qu'une étape passagère pouvant évoluer ultérieurement en anémie mégaloblastique.

LES HYPOCHLORHYDRIES ET LES ACHLORHYDRIES

En raison de la fréquence d'une achlorhydrie dans l'anémie pernicieuse, il a paru intéressant d'étudier (Tableau 17) la sécrétion du facteur intrinsèque chez quinze sujets

TABEAU 17

NOM	AGE	Etat de la sécrétion gastrique	Test intestin de cobaye			
			pur	1/4	1/16	1/64
B.	-	Achlorhydrie	128	58	13	14
P. G.	37	Hypochlorhydrie	92	97	40	44
B. S.	38	Hypochlorhydrie	182	114	32	6
U. V.	56	Hypochlorhydrie	157	176	150	85
D. J.	35	Achlorhydrie	43	10	35	39
D. C.	31	Hypochlorhydrie	65	92	91	48
M. P.	54	Hypochlorhydrie	34	46	59	34
H. R.	67	Achlorhydrie	56	90	78	29
M. J.	80	Achlorhydrie	13	20	28	26
C. J.	60	Achlorhydrie	9	10	8	12
P. B.	66	Hypochlorhydrie	156	156	125	64
S. J.	-	Achlorhydrie	142	146	56	21
N. F.	68	Hypochlorhydrie	147	101	132	65
M. A.	51	Achlorhydrie	140	230	77	-
P. P.	51	Achlorhydrie	5	3	7	0

*Le facteur intrinsèque
dans les hypochlorhydries et les achlorhydries.*

dont l'acidité libre de l'estomac était nulle ou diminuée. On observe chez dix sujets une sécrétion normale du facteur intrinsèque, chez trois une activité nulle et chez deux autres une baisse variable.

LES ULCÈRES GASTRIQUES

Une étude sur la sécrétion du facteur intrinsèque dans six cas d'ulcères de l'estomac a révélé une activité normale chez ces sujets (Tableau 18).

TABLEAU 18

NOM	AGE	Diagnostic	Test intestin de cobaye			
			pur	1/4	1/16	1/64
L. G.	—	Ulcère	125	66	40	28
P. L.	61	Ulcère petite courbure	112	110	137	59
P. J.	78	Ulcère face postérieure	80	91	53	29
B. C.	61	Ulcère probable	222	287	170	72
			289	305	153	47
C. R.	—	Ulcère	85	101	35	18
S. J.	—	Ulcus du bulbe	148	146	56	21

Le facteur intrinsèque dans l'ulcère gastrique.

Le facteur intrinsèque dans quelques autres états pathologiques

Etant donné la simplicité d'exécution apportée par le test clinique de l'intestin de cobaye et surtout compte tenu de son innocuité totale pour le malade, il est apparu que l'étude de la qualité de sécrétion en facteur intrinsèque du suc gastrique pouvait être intéressante, chez des sujets pour lesquels une telle étude n'est pas classique.

On peut se demander, en effet, si certains états pathologiques graves, qui altèrent l'état général de façon importante, n'ont pas de retentissement sur les fonctions sécrétrices de la muqueuse gastrique, en particulier sur la sécrétion du facteur intrinsèque. C'est ainsi qu'on a étudié le facteur intrinsèque du suc gastrique de malades présentant des affections pathologiques diverses: leucose aiguë, maladie de Hodgkin, érythroleucose, polynévrite, cirrhose du foie, lithiase vésiculaire, etc...

NÉOPLASIES EXTRA-GASTRIQUES

Leucoses aiguës

On a recherché le facteur intrinsèque dans le suc gastrique de treize sujets atteints de leucose aiguë (Tableau

TABLEAU 19

NOM	AGE	Valeur de l' anémie	MYELOGRAMME	Test intestin de cobaye			
				pur	1/4	1/16	1/64
A.	11	2 900 000	—	140	133	79	24
C. S.	2	1 300 000	—	100	43	22	25
C. M.	Enft			5	2	14	15
F.	?	Anémie	Mégalo blastes	98	82	37	34
G. L.	Enft	—	—	24	33	41	35
H. M.	2		Etalement riche en cellules leucoblastiques atypiques	42	64	65	27
L. Y.	Enft	2 200 000	—	130	186	183	77
L.	Enft	4 250 000	Etalement riche en cellules leucoblastiques atypiques	18	23	24	18
M. M.	7	2 000 000	idem	33	32	22	17
M. P.	5	2 100 000	idem	69	71	52	27
				89	112	60	31
N. J.	3	3 600 000	idem	124	150	138	60
T. M.	3		idem	41	47	36	30
T. L.	70	1 900 000	idem	134	214	132	44

Le facteur intrinsèque dans treize cas de leucose aiguë.

19). Chez six sujets, la sécrétion en facteur intrinsèque était normale, mais elle était nulle chez quatre sujets et abaissée de façon variable dans trois cas.

Il est assez frappant de constater la fréquence relativement élevée des cas de leucose aiguë où l'activité est nulle.

Ce phénomène peut être rapproché des observations de certains auteurs, selon lesquels certaines leucoses aiguës sont précédées de mégaloblastose rebelle à la thérapeutique vitaminique et sans rapport avec des anomalies d'absorption intestinale de cette vitamine.

Autres néoplasies extra-gastriques

On a recherché le facteur intrinsèque du suc gastrique chez quatorze malades (Tableau 20). On a retrouvé des valeurs d'activité normale chez onze sujets, une activité nulle chez trois sujets.

M. A., homme de 53 ans :

Malade présentant depuis trois ans une macroglobulinémie de Waldenström confirmée par l'immunoélectrophorèse et se tradui-

TABLEAU 20

NOM	AGE	Diagnostic	Test intestin du cobaye			
			pur	1/4	1/16	1/64
D. M.	66	maladie de HODGKIN	184	229	232	126
M.	2	maladie de HODGKIN	103	1.5	74	43
M. A.	50	maladie de WALDENSTRÖM	8	6	18	53
E. M.	69	maladie de WALDENSTRÖM	151	276	131	59
N. J.	62	maladie de KAHLER	1	0	4	9
Y. E.	69	leucose myéloïde	164	166	74	26
F. H.	27	leucose myéloïde + ulcère gastrique	81	70	39	18
B. M.	75	leucose myéloïde	94	162	92	41
G. E.	49	leucémie lymphoïde	160	217	77	28
G. D.	?	érythroleucose (avec mégaloïdisme)	88	143	127	99
R.	?	érythroleucose	308	143	96	35
C. J.	46	maladie de DI GUGLIELMO	131	201	79	91
D. P.	70	ostéomyélosclérose	32	43	43	33
B. M.	3	splénomégalie myéloïde	9	6	12	21

Le facteur intrinsèque dans quatorze cas de néoplasie extra-gastrique.

sant par une forte baisse de l'état général. Le malade présentait une anémie sévère à 1 800 000 globules rouges et une leucopénie à 2 800 globules blancs. Le myélogramme permettait de constater un envahissement de cellules lymphocytaires caractéristiques. Le suc gastrique était hypochlorhydrique. Activité intrinsèque nulle.

N. J. :

Maladie de Kahler à forme rénale chez une femme de 62 ans, avec atteinte importante de l'état général. Anémie à 2 500 000. Une rigidité segmentaire de la petite courbure apparaissait à la radiographie gastroduodénale. Activité en facteur intrinsèque nulle.

B. N. :

Splénomégalie myéloïde. Anémie hyperchrome importante avec hyperleucocytose et thrombocytopénie. La splénectomie n'a pas amélioré l'état général de cette femme. Activité en facteur intrinsèque nulle.

Chez ces quelques malades, il est probable que la perturbation de la sécrétion du facteur intrinsèque est en rapport avec les altérations importantes de l'état général.

Autres états pathologiques

Le facteur intrinsèque a été recherché chez dix-huit sujets atteints d'affections diverses (Tableau 21). On a ainsi retrouvé cinq cas d'activité nulle chez deux diabétiques qui présentaient une anémie importante, sans mégalo blastose, chez un sujet âgé atteint de cirrhose du foie, chez un enfant de trois ans vivant dans des conditions très insalubres et en très mauvais état général, enfin chez un enfant de quatre ans, présentant une hypersidérose pulmonaire et qui devait décéder quelques mois plus tard.

L'activité en facteur intrinsèque était diminuée dans un cas de panhypopituitarisme et dans un cas de sclérose combinée de la moelle.

Il semblerait qu'il existe chez certains sujets un retentissement de l'état général sur la sécrétion de facteur intrinsèque : nous avons, en effet, rencontré également une activité nulle dans certaines leucoses aiguës et dans quelques cas de néoplasmes extra-gastriques. Il serait intéressant

de rechercher chez ces sujets si cette altération de la sécrétion du facteur intrinsèque est passagère ou s'il s'agit

TABEAU 21

NOM	AGE	Diagnostic	Test intestin de cobaye			
			pur	1/4	1/16	1/64
C. P. J.	-	Diabète + anémie à 3 Millions	10	9	-	-
A. J.	71	Diabète + anémie à 2 600 000	11	17	21	35
R. V.	-	Diabète avec complications multiples	181	173	132	119
M. M.	69	Cirrhose du foie	-	39	6	12
K. J. P.	4	Hypersidérose pulmonaire	6	21	30	32
P. E.	11	Tuberculose pulmonaire	130	139	98	71
P. A.	-	Lithiase vésiculaire	75	74	69	39
L. L.	38	Saturnisme	110	198	87	36
R. J.	49	Maladie d'Addison	122	172	124	57
C. C.	57	Panhypopituitarisme	58	75	28	18
G. F.	-	Polynévrite	179	182	57	28
H. H.	23	Polynévrite gravidique	107	124	122	40
L. G.	55	Polynévrite éthylique	221	74	52	30
D. J.	26	Sclérose en plaque	100	181	134	-
G. M.	64	Sclérose combinée de la moelle	57	36	24	32
J. P.	-	Sclérose combinée	160	74	45	15
R. G.	54	Sclérose combinée	100	61	45	25
J. J.	3	Très mauvais état général	24	33	40	38

Le facteur intrinsèque dans diverses affections.

d'un phénomène constant, ces malades présentant alors dans un avenir plus ou moins lointain une anémie de Biermer.

Vue d'ensemble sur les résultats obtenus

Ces résultats ont été classés en valeurs normales, valeurs faibles chez des Biermériens et des non Biermériens et baisses variables (Fig. 1, 2, 3, 4).

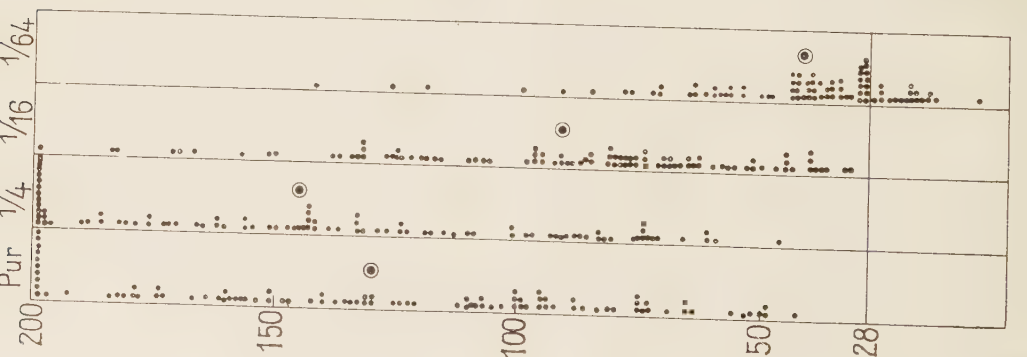
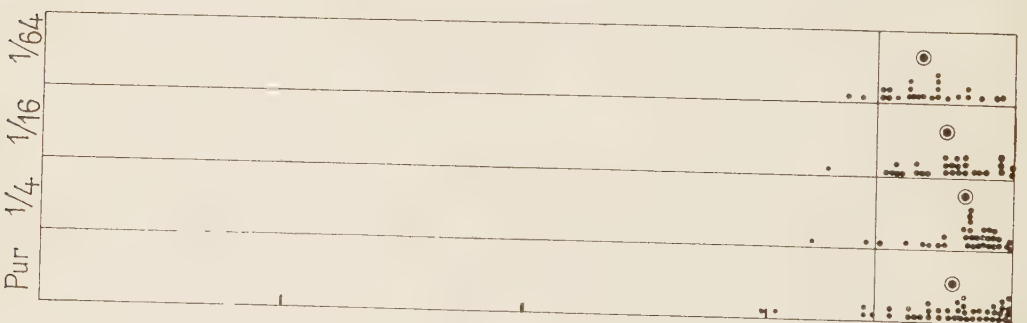
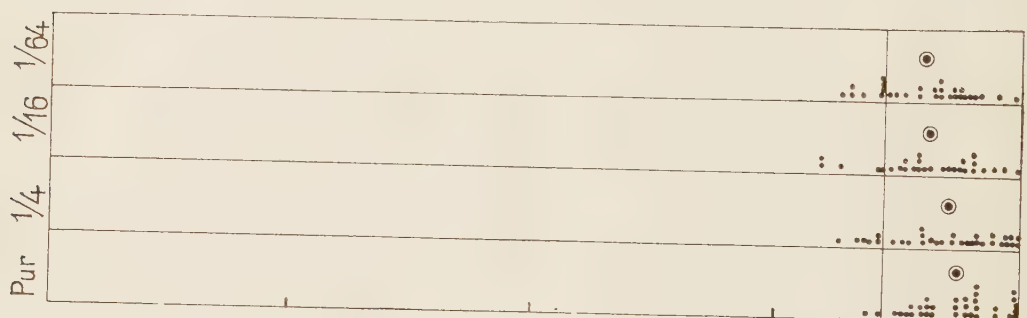
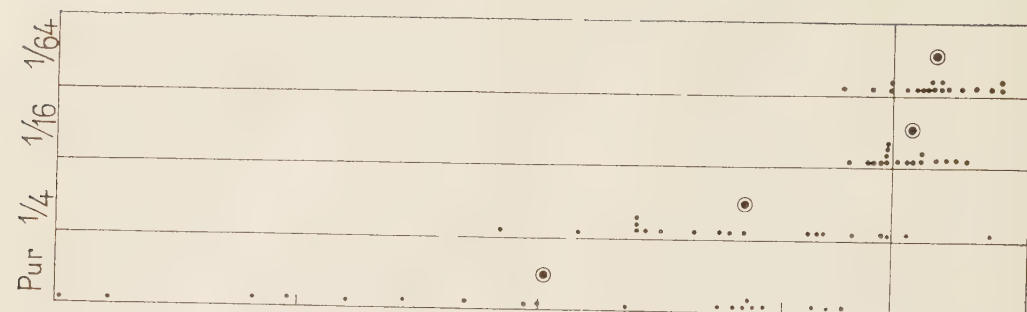
Sur la figure 1 sont représentés les cas où la sécrétion du facteur intrinsèque est normale. On remarque que pour les sucs gastriques purs et dilués au 1/4, les valeurs d'activité sont assez variables, mais que les chiffres inférieurs à cent sont nombreux.

L'activité moyenne du suc gastrique non dilué est inférieure à celle de la dilution au 1/4, puis à partir de cette valeur, la courbe d'activité prend une allure semi-logarithmique.

Cette observation paradoxale trouve son origine dans l'existence de deux composés doués de pouvoir de combinaison avec la vitamine B₁₂ dans le suc gastrique: l'un de ces composés est lié à l'activité facteur intrinsèque du suc gastrique, l'autre en est indépendant. Ce dernier composé, très abondant dans le suc non dilué, se combine en grande partie à la vitamine B₁₂ présente et la soustrait ainsi à l'activité du facteur intrinsèque. Il en résulte dans le cas du suc gastrique pur, une baisse de fixation intestinale de vitamine (R. WOLFF et Coll.: 1965).

On remarque enfin que pour quelques cas, les valeurs données avec la dilution au 1/64 sont inférieures à la fixation de base.

Dans les figures 2 et 3, sont représentées les valeurs qui traduisent une absence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique. A de très rares exceptions près, ces valeurs



sont toutes situées au-dessous de la valeur de la fixation de base. Dans de nombreux cas ces valeurs sont inférieures à cinq, ce qui traduit une nette inhibition de la fixation de base et la présence dans le suc gastrique de facteurs inhibiteurs dont le rôle n'est pas encore connu.

Dans la figure 4 enfin, sont regroupés quelques cas de baisses variables que la confrontation avec les figures précédentes classe bien dans une catégorie intermédiaire.

Si l'on rapporte ces résultats aux différents sujets étudiés, on constate que chez le nourrisson et les enfants normaux, il existe une activité en facteur intrinsèque dans le suc gastrique. Par contre, cette activité est abaissée de façon variable et parfois nulle chez quelques sujets âgés.

Dans les anémies (Tableau 22), on n'a pas retrouvé de facteur intrinsèque dans la maladie de Biermer. Chez dix-

TABLEAU 22

Cas étudiés	Valeurs Normales	Valeurs Nulles	Total
Anémies de Biermer		54	54
Anémies parabiermériennes	5	2	7
Anémies par carence en acide folique		1	1
Anémies des anticonvulsivants	1	2	3
Anémies hypochromes ferriprives	10	2	12
Anémies hypochromes hypersidérémiques	2		2
Anémies hyperchromes	1	1	2
Anémies hémolytiques	1		1
Anémies de MINKOWSKI-CHAUFFARD		1	1
Thalassémies	3		3

Le facteur intrinsèque dans les anémies.

sept sujets, on a constaté que la fixation était inférieure à la fixation de base et qu'il paraît vraisemblable que le suc gastrique de certains Biermériens soit inhibiteur du fac-

teur intrinsèque. Le test de SCHILLING pratiqué chez vingt-cinq Biernériens est en parfaite concordance avec les résultats obtenus par le test clinique de l'intestin de cobaye.

La plupart des sujets atteints d'anémies non Biernériennes présentaient une activité normale, mais on a retrouvé quelques cas de baisse d'activité et même quelques cas d'activité nulle, sans qu'il soit possible de dire s'il s'agissait de sujets prédisposés à l'anémie pernicieuse, ou s'il s'agissait d'un défaut de sécrétion passagère. Le cas des anémies survenant chez certains sujets traités par les anticonvulsivants est particulièrement intéressant et pose le problème des corrélations entre les perturbations du métabolisme de l'acide folique et les carences en facteur intrinsèque dans la genèse des anémies mégalo-blastiques.

L'étude du facteur intrinsèque en pathologie gastrique (Tableau 23) a permis de constater que l'activité était nor-

TABEAU 23

Cas étudiés	Valeurs Normales	Baisses Variables	Valeurs Nulles	Total
Sujets âgés	10	1	5	16
Gastrectomies	2	4	6	12
Cancer de l'estomac	6	5	4	15
Gastrites	10	2	2	14
Achlorhydries et hypochlorhydries	10	2	3	15
Ulcères gastriques	6			6

Le facteur intrinsèque en pathologie gastrique.

male dans tous les cas d'ulcères examinés, mais qu'il arrivait qu'elle soit diminuée et même nulle dans les autres affections étudiées, la plus grande fréquence étant retrouvée chez les sujets gastrectomisés.

Comme nous l'avons remarqué dans le cas des sujets âgés, la diminution de sécrétion du facteur intrinsèque est parallèle à la baisse de l'acidité libre du suc gastrique.

On a également, en étudiant la valeur de la sécrétion du facteur intrinsèque dans quelques cas de leucoses aiguës, de néoplasies gastriques et chez quelques autres malades (Tableau 24) observé quelques variations d'activité et par-

TABLEAU 24

Cas étudiés	Valeurs Normales	Baisses Variables	Valeurs Nulles	Total
Leucoses aiguës	6	3	4	13
Néoplasies extra-gastriques	11		3	14
Autres cas	11	2	5	18

Le facteur intrinsèque dans quelques autres états pathologiques.

fois même l'absence totale de facteur intrinsèque. Il est donc possible que l'état général retentisse sur la sécrétion gastrique, mais ces quelques observations ne sont pas suffisantes pour permettre une conclusion formelle.

Conclusion

Nous avons, dans ce travail, après un bref exposé des propriétés générales du facteur intrinsèque, décrit les méthodes d'étude de ce facteur le plus couramment employées dans le domaine de la recherche et en clinique.

On peut classer d'une façon générale ces méthodes en deux grandes catégories: tests d'exploration de l'activité en facteur intrinsèque réalisé *in vivo*, et techniques de recherche de ce facteur *in vitro*.

Parmi les techniques d'exploration du facteur intrinsèque *in vivo*, la recherche de la réponse érythrocytaire est maintenant totalement abandonnée en raison de la durée considérable de l'expérimentation, de l'imprécision des résultats et du danger qu'elle peut faire courir au malade. Les autres tests reposent tous sur l'emploi d'isotopes radioactifs: ils consistent à faire ingérer au malade une certaine quantité de vitamine B₁₂ radioactive et à rechercher le pourcentage de vitamine absorbée par le sujet. La quantité de vitamine fixée par le sujet est déterminée en mesurant la radioactivité fixée par le sérum, le foie ou l'organisme entier, mais on peut également l'évaluer par différence en mesurant la radioactivité non absorbée qu'on retrouve dans les excréments (urines, selles).

Ces tests ne sont pas applicables à tous les malades, et certains nécessitent l'emploi d'un matériel très coûteux (mesure de la radioactivité de l'organisme entier); d'autre part, la distinction entre les syndromes de malabsorption et l'absence de facteur intrinsèque nécessite un examen double.

Parmi les techniques de recherche du facteur intrinsèque *in vitro*, on a proposé des méthodes indirectes fondées sur l'étude de la capacité de combinaison du facteur intrinsèque pour la vitamine B₁₂. Mais ces résultats ne sauraient être considérés comme valables, même si dans certains cas apparaît un parallélisme entre cette capacité et l'activité en facteur intrinsèque. Cette relation n'est pas générale et présente de nombreuses exceptions.

Plusieurs méthodes reposent sur l'action stimulante du facteur intrinsèque, sur la fixation de vitamine B₁₂ par certains tissus. Parmi ces méthodes, il y a lieu d'abandonner celle que préconise MILLER et Coll. qui repose sur la fixation en présence de facteur intrinsèque de porc de vitamine B₁₂ par un broyat ou des coupes de foie de rat. Il n'apparaît pas que le facteur intrinsèque ait quelque rôle dans cette réaction.

Par contre, l'étude de l'absorption de la vitamine B₁₂, soit par un broyat de muqueuse intestinale (HERBERT), soit par des segments vivants d'intestin de cobaye, dépend indiscutablement du taux de facteur intrinsèque présent dans le milieu.

Le dosage du facteur intrinsèque du suc gastrique humain a été décrit par MM. R. WOLFF et P. NABET. Ces auteurs ont mis au point une technique simplifiée de recherche du facteur intrinsèque applicable en clinique.

Cette simplification repose essentiellement sur la mesure, au moyen de quatre segments intestinaux d'un seul animal, de la fixation de vitamine B₁₂ en présence de dilutions variables de suc gastrique. Ce test suffit amplement pour les besoins de la clinique. D'exécution aisée et rapide (si on dispose d'un équipement prêt à fonctionner, une telle épreuve peut s'effectuer en trois heures), il ne présente aucun danger pour le malade et peut être employé chez l'enfant et le nourrisson. De plus, la distinction entre l'anémie de Biermer et un syndrome de malabsorption ne nécessite qu'un seul examen. Une étude récente de MM. WOLFF et NABET a montré qu'il existait

une excellente corrélation entre les résultats donnés par ce test et ceux obtenus par le test de SCHILLING.

L'emploi de ce test clinique chez deux cent trente-deux malades a permis de constater que les résultats obtenus pouvaient être regroupés en trois grandes catégories :

1° *Activité en facteur intrinsèque normale* : les valeurs obtenues sont situées entre 40 et 200 (en coups par minute pour 100 mg de tissu frais) pour les solutions non diluées, diluées au 1/4 et presque toujours aussi pour les solutions diluées au 1/16, la dilution au 1/64 fournissant presque toujours des résultats voisins ou égaux à 30.

2° *Activité nulle* : Tous les chiffres sont inférieurs à la fixation de base (30) et certains sucs gastriques ne dépassent pas la valeur de 5 : ils contiennent des inhibiteurs puissants.

3° *Activité abaissée en facteur intrinsèque* : la baisse est nette, mais modérée, si le suc gastrique pur et la dilution au 1/4 fournissent seuls des chiffres inférieurs à la fixation de base ; elle est importante si seule la solution pure atteint la fixation de base et que les dilutions suivantes donnent une valeur inférieure.

En confrontant ces résultats avec les données physiologiques et cliniques, on a pu constater que l'activité en facteur intrinsèque du nourrisson et de l'enfant, ainsi que de la plupart des malades non Biermériens était normale.

Chez quelques sujets, on a observé une absence ou une baisse de l'activité, sans que ceux-ci présentent une anémie mégaloblastique, mais ces examens n'ayant été faits qu'une seule fois, il ne nous est pas possible de dire s'il s'agit d'une absence temporaire d'activité, ou si ces sujets sont prédisposés à développer après une période de latence plus ou moins longue une anémie pernicieuse, comme cela se rencontre chez les sujets gastrectomisés, dans certains cancers gastriques, et parfois chez le sujet âgé.

Une étude comportant cinquante-quatre cas d'anémies de Biermer a révélé que chez ces sujets, le suc gastrique

ne présentait aucune activité en facteur intrinsèque et contenait même dans de nombreux cas des inhibiteurs puissants de cette activité. Il n'en est pas de même dans les anémies mégaloblastiques d'origine intestinale.

On peut donc affirmer que le taux de facteur intrinsèque est annulé de façon constante dans l'anémie de Biermer : ce test clinique de recherche directe du facteur intrinsèque apporte, en conséquence, un élément de diagnostic important pour confirmer la nature d'une anémie mégaloblastique. Mais en raison de l'absence de facteur intrinsèque dans des cas autres que l'anémie de Biermer, la constatation d'un facteur intrinsèque nul ne saurait à elle seule constituer un élément de présomption d'anémie de Biermer.

BIBLIOGRAPHIE

REVUES D'ENSEMBLE

- GLASS (G.B.J.). — Gastric Intrinsic Factor and its function in metabolism of vitamin B₁₂.
Physiol. Rev., 1963, **43**, 529-793.
- WOLFF (R.). — Le Facteur Intrinsèque. Son rôle dans l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂.
Ann. Nutr. (Paris), 1964, **18**, C 461-C 500.

MÉMOIRES ORIGINAUX

- a. ABELS (J.), BOUMA (W.), JANSZ (A.), WOLDRING (M.G.), BAKKER (A.), and NIEWEG (H.O.). — Experiments on the intrinsic factor antibody in serum from patients with pernicious anemia.
J. Lab. clin. Med., 1963, **61**, 893-906.
- b. ABELS (J.), BOUMA (W.), and NIEWEG (H.O.). — Assay of intrinsic factor with anti-intrinsic factor serum in vitro.
Biochim. biophys. Acta, 1963, **71**, 227-229.
- ADDISON (T.). — Anemia: Disease of the supra-renal capsules.
Lond. Med. Gaz., 1849, **8**, 517-518 and 562-563.
- ARDEMAN (S.), and CHANARIN (I.). — A method for the assay of human gastric intrinsic factor and for the detection and titration of antibodies against intrinsic factor.
- BADENOCH (J.), CALLENDER (S.T.), EVANS (J.R.), TURNBULL (A.L.), and WITTS (L.J.). — Megaloblastic anaemia of pregnancy and the puerperium.
Brit. med. J., 1955, **1**, 1245-1247.
- BARLOW (G.H.), and FREDERICK (K.J.). — In vitro assay of hog intrinsic factor concentrates employing paper electrophoresis and radioactive vitamin B₁₂ (abstr.).
Fed. Proc., 1958, **17**, 185.
- BARLOW (G.H.), and FREDERICK (K.J.). — In vitro assay of hog intrinsic factor concentrates employing paper electrophoresis and Co⁶⁰ B₁₂.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1959, **101**, 400-405.
- BERK (L.), CASTLE (W.B.), WELCH (A.D.), HEINLE (R.W.), ANKER (R.), and EPSTEIN (M.). — Observation on the etiological relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. X - Activity of vitamin B₁₂ as food (extrinsic) factor.
New Engl. J. Med., 1948, **239**, 911-913.
- a. BERLIN (R.), BERLIN (H.), BRANTE (G.), and SJÖBERG (S.G.). — Failures in long-term oral treatment of pernicious anemia with B₁₂ intrinsic factor preparations.
Acta med. scand., 1958, **161**, 143-150.

1. BERLIN (R.), BERLIN (H.), BRANTE (G.), and SJÖBERG (S.G.). — Refractoriness to intrinsic factor-B₁₂ preparations abolished by massive doses of intrinsic factor.
Acta med. scand., 1958, **162**, 317-319.
- BERLY (N.), LEVENE (M.), and Mc GLASHAN (A.). — Megaloblastic anaemia following anticonvulsants.
Brit. med. J., 1955, **1**, 1247-1248.
- BERNARD (J.). — Maladies du Sang.
Paris, Flammarion, 1948, 207-246 et 246a-246n.
(Collect. méd. chir. à révision annuelle).
- BESANÇON (F.). — Etudes cliniques et biologiques sur l'anémie pernicieuse.
Paris, Expansion Scient. franç., 1955, 140 p.
- BESANÇON (F.). — Anémie pernicieuse.
in: E.M.C., sang, système végétatif, 13002 A 10, 1-14.
- BETHELL (F.H.), SWENDSEID (M.E.), MEYERS (M.C.), NELIGH (R.B.), and RICHARDS (H.G.). — Observations on hemopoietic factors in hog stomach and duodenum, and the treatment of pernicious anaemia by orally administered vitamin B₁₂ in combination with extracts of duodenal mucosa.
Univ. Mich. med. Bull., 1949, **15**, 49-53.
- BETHELL (F.H.), SWENDSEID (M.E.), MILLER (S.), and CINTRON-RIVERA (A.A.). — Cobalamin (vitamin B₁₂) and the intrinsic factor of Castle.
Ann. intern. Med., 1951, **35**, 518-528.
- BETHELL (F.H.). — British Patent, Oct. 22, 1952, 681 and 398.
- BIERMER (A.). — Über progressiv perniciöse Anämie.
Korresp.- Be. schweiz. Arz., 1872, **2**, 15-17.
- BIGGS (J.C.), TAYLOR (K.B.), VALBERG (L.S.), and WITTS (L.J.). — Effect of iron deficiency on the absorption of vitamin B₁₂ in the rat.
Gastroenterology, 1962, **43**, 430-435.
- BOOTH (C.C.), and MOLLIN (D.L.). — Plasma, tissue and urinary radioactivity after oral administration of Co 56 - labeled B₁₂.
Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor, 1^{er} Symp. européen, Hambourg, 1956, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1957, 431-437.
- BRADLEY (J.E.), SMITH (E.L.), BAKER (S.J.) and MOLLIN (D.L.). — The use of the radioactive isotope of cobalt 58 for the preparation of labeled vitamin B₁₂.
Lancet, 1954, **2**, 476-477.
- BRODINE (C.), FRIEDMANN (B.I.), SAENGER (E.L.), and WILL (J.J.). — The absorption of vitamine B₁₂ labeled with radioactive Co 60 following subtotal gastrectomy.
J. Lab. clin. Med., 1959, **53**, 220.
- BROMER (W.W.) and DAVISSON (E.O.). — Isolation and characterization of a porcine intrinsic factor - vitamin B₁₂ complex (abstr.).
Fed. Proc., 1961, **20**, 377.
- BROMER (W.W.) and DAVISSON (E.O.). — Preparation and characterization of a clinically effective porcine intrinsic factor - vitamin B₁₂ complex.
Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor. 2^e Symp. Européen. Hambourg, 1961, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1962, 457-461.
- BURKHOLDER (P.R.). — Microbiological studies on materials which potentiate oral vitamin B₁₂ therapy in Addisonian anemia.
Arch. Biochem., 1952, **39**, 322-323.
- CALLENDER (S.T.) and LAJTHA (L.G.). — On the nature of Castle's hemopoietic factor.
Blood, 1961, **6**, 1234-1239.

CALVERT (R.), HURWORTH (E.) and Mc BEAN (A.L.). — Megaloblastic anemia from Methophenolbarbital.

Blood, 1958, **13**, 894-898.

CASTLE (W.B.) and LOCKE (E.A.). — Observations on etiological relationship of achylia gastrica to pernicious anemia (abstr.).

J. Clin. Invest., 1928, **6**, 2-3.

a. CASTLE (W.B.). — Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. I - The effect of the administration in patients with pernicious anemia of the contents of the normal human stomach recovered after the ingestion of beef muscle.

Amer. J. med. Sci., 1929, **178**, 748-764.

b. CASTLE (W.B.) and TOWNSEND (W.C.). — Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. II - The effect of the administration to patients with pernicious anemia of beef muscle after incubation with normal human gastric juice.

Amer. J. med. Sci., 1929, **178**, 764-777.

CASTLE (W.B.) and HAM (T.H.). — Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. V - Further evidence for essential participation of intrinsic factor in hematopoietic responses to mixtures of beef muscle and gastric juice and to hog stomach mucosa.

J. Amer. med. Ass., 1936, **107**, 1456-1463.

CASTLE (W.B.), HEATH (W.W.), STRAUSS (M.B.) and HEINLE (R.W.). — Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. VI - The site of the interaction of food (extrinsic) and gastric factors failure of in vitro incubation to produce a thermostable hematopoietic principle.

Amer. J. med. Sci., 1937, **194**, 618-625.

CHALET (L.), ROSENBLUM (C.) and WOODBURY (D.T.). — Biosynthesis of radioactive vitamin B₁₂ containing cobalt 60.

Science, 1950, **3**, 601-602.

CHANARIN (I.), ELMES (P.C.) and MOLLIN (D.L.). — Folic-acid studies in megaloblastic anaemia due to Primidone.

Brit. med. J., 1958, **2**, 80-82.

CHERNISH (S.M.), HEIMER (O.M.), FOUTS (P.J.) and KOHLSTAEDT (K.G.). — The effect of intrinsic factor on the absorption of vitamin B₁₂ in older people.

Amer. J. clin. Nutr., 1957, **5**, 651-658.

CHOSY (J.J.) and SCHILLING (R.F.). — Use of radioactive vitamin B₁₂ to purify the intrinsic factor of human gastric juice.

Congr. Intern. Soc. Hematol., 9e, Mexico, 1962 (abstr. Sec. I).

CHOSY (J.J.) and SCHILLING (R.F.). — Intrinsic factor studies. VII - The use of ion-exchange chromatography, gel filtration, and ultrafiltration to purify the intrinsic factor of human gastric juice.

J. Lab. clin. Med., 1963, **61**, 907-916.

CHOW (B.F.), HSU (J.M.), OKUDA (K.), GRASBECK (R.) and HORONICK (A.). — Factors affecting the absorption of vitamin B₁₂.

Amer. J. clin. Nutr., 1958, **6**, 386-393.

CHOW (B.F.). — Nutritional significance of vitamin B₁₂. II - Mechanism of absorption of vitamin B₁₂; III - Vitamin B₁₂ in health and disease.

Wld. Rev. Nutr. Diet., 1959, **1**, 135-143.

CHOW (B.F.), DAVIS (R.L.) and LAWTON (A.H.). — Application of vitamin B₁₂ serum level test to the oral absorption of vitamin B₁₂ - resin adsorbate.

Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor. 2^e Symp. européen, Hambourg, 1961, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1962, 338-344.

- COOPER (B.A.) and LOWENSTEIN (L.). — Vitamin B₁₂ binding by normal human serum (abstr.).
J. clin. Invest., 1962, **41**, 1352.
- DAVIS (B.) and MINGLIOLI (E.). — Mutants of *Escherichia coli* requiring methionine or vitamin B₁₂.
J. Bact., 1950, **60**, 17-28.
- DEBRAY (C.), LAUMONIER (R.), BESANÇON (F.) et HOUSSET (P.). — La gastrite atrophique du fundus dans l'anémie pernicieuse. Etude biopsique.
Sem. Hôp. Paris, 1955, **31**, 3083-2095.
- DENNIG (H.). — Perniziöse Anämie nach Magenresektion.
Münch. med. Wschr., 1929, **76**, 633.
- DOSCHERHOLMEN (A.) and HAGEN (P.S.). — Radioactive vitamin B₁₂ absorption studies: results of direct measurement of radioactivity in the blood (abstr.).
J. clin. Invest., 1956, **35**, 699.
- DOSCHERHOLMEN (A.), HAGEN (P.S.) and LIU (M.). — Radioactive vitamin B₁₂ absorption studies: Results of direct measurement of radioactivity in the blood.
Blood, 1957, **12**, 336-346.
- DOSCHERHOLMEN (A.) and HAGEN (P.S.). — Comparison of the plasma absorption and the urinary excretion tests as measures of absorption of cyanocobalamin (abstr.).
J. Lab. clin. Med., 1958, **52**, 809-810.
- a. DOSCHERHOLMEN (A.) and OLIN (L.). — Scintillation spectrometry of Co 57 vitamin B₁₂ in the diagnosis of pernicious anemia.
Vitamin B₁₂ and Intrinsic Factor. 2^e Symp. européen, Hambourg, 1961, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1962, 472-485.
- b. DOSCHERHOLMEN (A.) and RIPLEY (D.). — Enzymatic release of vitamin B₁₂ bound either to the intrinsic factor or in the wall of the small intestine.
Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor. 2^e Symp. européen, Hambourg, 1961, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1962, 472-485.
- DUBOIS (R.). — Clinique et physiopathogénie des maladies cœliaques.
Masson, Edit., Paris, 1939, 350 p.
- EAKIN (R.E.). — In vitro studies of anti-anemic principles (abstr.).
Am. Chem. Soc., 7^e réunion de la région Sud-Ouest, Austin, Texas, 1951.
- EDITORIAL. — William Bosworth CASTLE. — Curriculum Vitae and bibliography.
Arch. intern. Med., 1958, **101**, 175-183.
- ELLENBOGEN (L.) and WILLIAMS (W.L.). — Preparation and properties of purified intrinsic factor.
Biochem. biophys. Res. Commun., 1960, **2**, 340-343.
- ELLENBOGEN (L.) and HIGHLEY (D.R.). — Release of vitamin B₁₂ and cobamide coenzyme from rat intrinsic factor by rat intestinal extracts.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1963, **113**, 229-233.
- EVERSE (J.W.R.) and WIJMEGA (H.G.). — Clinical activity of intrinsic factor and vitamin B₁₂ binding capacity.
4^e Congr. Europ. Soc. Hématol., Amsterdam, 1953.
- FENWICK (S.). — On atrophy of the stomach.
Lancet, 1870, **2**, 78-80.
- FORMIJNE (P.). — Experiments on properties of extrinsic factor and on reaction of Castle.
Arch. intern. Med., 1960, **66**, 1191-1214.

- FOX (H.J.) and CASTLE (W.B.). — Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. IX - Difference in site of secretion of intrinsic factor in the hog and in the human stomach.
Amer. J. med. Sci., 1942, **203**, 18-28.
- FRIEDLANDER (R.D.). — Racial factor in pernicious anemia: study of 500 cases.
Amer. J. med. Sci., 1934, **187**, 634-642.
- GAZAL (P.). — Les mégaloblastoses non Biermériennes.
Rev. Hématol., 1949, **4**, 41-57.
- GIRWOOD (R.-H.). — The role of folic acid in the blood disorders.
Brit. med. J., 1959, **15**, 14-18.
- GLANZMANN (E.). — Klinische und experimentelle Studien über Ziegenmilchanämie und Dystrophie.
Jb. Kinderheilk., 1926, **111**, 127-164.
- a. GLASS (G.B.J.). — Hematopoietic activity of glandular mucroprotein from human gastric juice.
Gastroenterology, 1953, **23**, 219-228.
- b. GLASS (G.B.J.) and BOYD (L.J.). — Oral treatment of pernicious anemia with small doses of vitamin B₁₂ combined with mucinous materials derived from the hog stomach.
Blood, 1953, **8**, 867-892.
- a. GLASS (G.B.J.). — Scintillation measurements of the uptake of radioactive vitamin B₁₂ by the liver in normal humans and patients with pernicious and other macrocytic anemias.
Bull. N. Y. Acad. Med., 1954, **30**, 717-718.
- b. GLASS (G.B.J.), BOYD (L.J.), GELLIN (G.A.) and STEPHANSON (L.). — Test for intrinsic factor activity: measurement of hepatic uptake of ingested radioactive vitamin B₁₂ (abstr.).
Fed. Proc., 1954, **13**, 54-55.
- c. GLASS (G.B.J.), BOYD (L.J.), GELLIN (G.A.) and STEPHANSON (L.). — Uptake of radioactive vitamin B₁₂ the liver in humans: test for measurement of intestinal absorption of vitamin B₁₂ and intrinsic factor activity.
Arch. Biochem., 1954, **51**, 251-257.
- GLASS (G.B.J.), PACK (G.T.), MERSHEIMER (W.L.), KUSNICK (J.) and LAUGHTON (R.). — Uptake of radioactive vitamin B₁₂ by the liver in patients with total and subtotal gastrectomy.
Gastroenterology, 1955, **29**, 666-682.
- GLASS (G.B.J.). — Intestinal absorption and hepatic uptake of vitamin B₁₂ in diseases of the gastrointestinal tract.
Gastroenterology, 1956, **30**, 37-52.
- a. GLASS (G.B.J.) and BOYD (L.J.). — Differentiation of macrocytic anemias and diagnosis of pernicious anemia and sprue in remission by accelerated measurement of hepatic uptake of radioactive Co 60 B₁₂.
Ann. intern. Med., 1957, **47**, 274-292.
- b. GLASS (G.B.J.), STEPHANSON (L.), RICH (M.) and LAUGHTON (R.W.). — Intrinsic factor activity of human gastric juice after fractionation by continuous electrophoresis on paper curtain.
Brit. J. Haematol., 1957, **3**, 401-411.
- GLASS (G.B.J.), JACOB (T.A.), WILLIAMS (D.E.) and HOWE (E.E.). — Correlation in intrinsic factor activity of hog stomach preparations with their paper-electrophoretic patterns, sedimentation constants and B₁₂ binding capacity.
Tohoku J. exp. Med., 1959, **71**, 1-17.

- GLASS (G.B.J.), CASTRO (Z.), UCHINO (H.), SCHWARTZ (G.) and ISHIMORI (A.). — In vitro test for pernicious anemia (abstr.).
Clin. Res., 1961, **9**, 159.
- GLASS (G.B.J.), CASTRO (Z.), UCHINO (H.), SCHWARTZ (G.), ISHIMORI (A.) and MORKIN (P.). — In vitro test on gastric juice for pernicious anemia and its precursor states.
Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor, 2^e Symp. europ., Hambourg, 1961, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1962, 520-534.
- a. GOLDHAMER (S.M.). — Macrocytic anemia in carcinoma of the stomach apparently due to lack of intrinsic factor.
Amer. J. med. Sci., 1938, **195**, 17-20.
- b. GOLDHAMER (S.M.) and KYER (J.). — Chemical studies of the intrinsic factor in dessicated stomach and normal human gastric juice. I - Separation of the intrinsic factor.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1938, **37**, 659-661.
- GRASBECK (R.). — Studies on the vitamin B₁₂ binding principle and other biocolloids of human gastric juice.
Acta med. scand., 1956, suppl. **314**, 87 p.
- a. GRASBECK (R.). — Action of group blocking agents and enzymes on intrinsic factor preparations.
Acta chem. scand., 1958, **12**, 142-144.
- b. GRASBECK (R.), NYBERG (W.) and REIZENSTEIN (P.). — Biliary and fecal vitamin B₁₂ excretion in man: an isotope study.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1958, **97**, 780-784.
- GRASBECK (R.). — Influence of specific groupe inhibitors and enzymes on intrinsic factor activity.
Acta physiol. scand., 1959, **45**, 88-95.
- GRASBECK (R.), SIMONS (K.) and SINKKONEN (I.). — Fractionation of human gastric juice by means of DEAE-cellulose chromatography.
Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor. 2^e Symp. europ., Hambourg, 1961, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1962, 462-465.
- GULLBERG (R.). — Electrophoretic fractionation of B₁₂ binders in gastric juices from patients with pernicious anemia and from controls.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1960, **106**, 62-66.
- a. HALL (B.E.), MORGAN (E.H.) and CAMPBELL (D.C.). — Studies on the nature of the intrinsic factor of Castle.
Brit. med. J., 1950, **2**, 585-599.
- b. HALL (B.E.), CATHELL (F.H.), MORGAN (E.H.), CAMPBELL (D.C.), SWENDSEIF (M.E.), MILLER (S.) and CINTRON-RIVERA (A.A.). — Observations on the presence of intrinsic factor in extracts of hog stomach and duodenum.
Proc. Mayo Clin., 1950, **25**, 105-113.
- HAKWINS (C.F.) and MEYNELL (M.J.). — Macrocytosis and macrocytic anaemia caused by anticonvulsant drugs.
Quart. J. Med., 1958, **51**, 45-63.
- HEATHCOTE (J.G.) and MOONEY (F.S.). — Does intrinsic factor exist?
Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor. 2^e Symp. europ., Hambourg, 1961, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1962, 540-549.
- HEATLEY (N.G.), SHEIKH (M.A.) and TAYLOR (K.B.). — Some experiments on intrinsic factor.
J. Biochem., 1960, **76**, 342-349.
- HEINLE (R.W.), WELCH (A.D.), SHARG (V.), MEACHAM (G.C.) and PRUSOFF (W.H.). — Studies of excretion (and absorption) of Co 60 - labeled vitamin B₁₂ in pernicious anemia.
Trans. Ass. Amer. Phys., 1952, **65**, 214-222.

- HEINRICH (H.C.) und LAHANN (H.). — Der orale vitamin B₁₂ - Resorptions - Exkretionstest: Ein Beitrag zur biochemischen Differential - diagnostik der Megaloblasten - Anämien.
Dtsch. med. Wschr., 1953, **78**, 1475-1476.
- HEINRICH (H.C.). — Die Testung hochgereinigter Intrinsic Factor-Konzentrate mit dem oralen Vitamin B₁₂ - Resorptions - Exkretionstest.
Arzneimittel-Forsch., 1956, **6**, 305-309.
- HEINRICH (H.C.) und PFAU (A.A.). — Mit Hilfe eines Gesamtkörper-Radioaktivitäts-Detektors - durchgeführte Untersuchungen zur Resorption, biologischen Halbwertszeit und Umsatzrate des Vitamin B₁₂ im menschlichen Organismus.
Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor, 2^e Symp. europ., Hambour, 1961, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1962, 351-381.
- HELMER (O.M.), FOUTS (P.J.) and ZERFAS (L.G.). — Increased potency of liver extract by incubation with human gastric juice.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1933, **30**, 775-778.
- HELMER (O.M.), FOUTS (P.J.) and ZERFAS (L.G.). — Relationship of intrinsic factor to hematopoietic material in concentrated human gastric juice.
Amer. J. med. Sci., 1934, **188**, 184-193.
- HELMER (O.M.) and FOUTS (P.J.). — Fractionation studies on intrinsic factor in normal human gastric juice.
Amer. J. med. Sci., 1937, **194**, 399-410.
- a. HERBERT (V.). — Studies of the mechanism of the effect of hog intrinsic factor concentrate on the uptake of vitamin B₁₂ by rat liver slices.
J. clin. Invest., 1958, **37**, 646-650.
- b. HERBERT (V.). — Development of a possible « in vitro » assay for intrinsic factor.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1958, **97**, 668-671.
- a. HERBERT (V.). — Mechanism of intrinsic factor action in everted sacs of rat small intestine.
J. clin. Invest., 1959, **38**, 102-109.
- b. HERBERT (V.). — The megaloblastic anemias.
New-York, London, Grune and Stratton Edit., 1959, 162 p.
- c. HERBERT (V.). — Rapid in vitro assay of human gastric juice for intrinsic factor (abstr.).
Clin. Res., 1959, **7**, 259.
- a. HERBERT (V.). — Mechanism of absorption of vitamin B₁₂.
Fed. Proc., 1960, **19**, 884-886.
- b. HERBERT (V.), CASTRO (Z.) and WASSERMAN (L.R.). — Stoichiometric relation between liverreceptor, intrinsic factor and vitamin B₁₂.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1960, **104**, 160-164.
- HERBERT (V.), GOTTLIEB (C.G.), LAU (K.S.) and WASSERMAN (L.R.). — Intrinsic factor assay.
Lancet, 1964, **2**, 1017-1018.
- HOEDEMAEKER (Ph.J.). — Investigations on the site of production of Castle's gastric intrinsic factor.
Drukkerij van Denderen, Groningen, Edit., 1965, 57 p.
- HOFF-JRGENSEN (E.). — The effect of « intrinsic factor » on the absorption of vitamin B₁₂ by wild type Escherichia Coli.
Arch. Biochem., 1952, **36**, 235-236.
- HOLDSWORTH (E.S.) and COATES (M.E.). — Binding factors in the absorption of vitamin B₁₂ by the rat.
Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor, 1^{er} Symp. europ. Hambour, 1956, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1957, 241-243.

- HOLDSWORTH (E.S.) and COATES (M.E.). — The absorption of vitamin B₁₂ in animals. I - The effect of different binding and intrinsic factors. *Proc. Nutr. Soc. (Engl. Scot.)*, 1959, 14, XIV.
Clin. chim. Acta, 1960, **5**, 853-861.
- HOLDSWORTH (E.S.). — The isolation and properties of intrinsic factor and vitamin B₁₂ binding substances from pig pylorus.
Biochim. biophys. Acta, Amst., 1961, **51**, 295-308.
- HUNT (T.E.) and HUNT (E.A.). — Radioautographic study of proliferation in the stomach of the rat using thymidine-H₃ and compound 48/80.
Anat. Rec., 1962, **142**, 505-517.
- ISRAELS (M.C.G.) and WILKINSON (J.F.). — Achrestic anaemia.
Quart. J. Med., 1936, **5**, 69-103.
- JACOB (T.A.), WILLIAUS (D.E.), HOWE (E.E.) and GLASS (G.B.J.). — Ultracentrifugation and paper electrophoresis of highly active intrinsic factor preparations.
Arch. Biochem., 1959, **81**, 522-525.
- JEFFRIES (G.H.), HOSKINS (D.W.) and SLEISENGER (M.H.). — Antibody to intrinsic factor in serum from patients with pernicious anemia.
J. clin. Invest., 1962, **41**, 1106-1115.
- JEFFRIES (G.H.), SLEISENGER (M.H.) and BENJAMIN (L.B.). — The immunologic identification and quantitation of human intrinsic factor in gastric secretion.
J. clin. Invest., 1963, **42**, 442-449.
- KILLANDER (A.). — Oral treatment of pernicious anaemia with vitamin B₁₂ and purified intrinsic factor. II - Studies on the reduced effect of prolonged treatment.
Acta Soc. Med. upsalien., 1958, **63**, 1-13.
- KLAYMAN (M.I.) and BRANDBOG (L.). — Clinical application of cobalt 60-labeled vitamin B₁₂ urine test.
New Engl. J. Med., 1955, **253**, 808-812.
- KOMNICK (H.). — Zur funktionellen Morphologie der Salzsäuren Produktion in den Magenschleimhaut.
Histochemie, 1963, **3**, 354.
- KREBS (H.A.) and HENSELEIT (K.). — Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper.
Hoppe-Seyl. Z. physiol. Chem., 1932, **210**, 33-66.
- LANDBOE-CHRISTENSEN (E.) and BLUM (C.M.). — Experimental study on the localisation of Castle's intrinsic factor in the human stomach.
Amer. J. med. Sci., 1948, **215**, 17-23.
- LAMY (M.) et BESANÇON (F.). — L'hérédité de la maladie de Biermer.
Sang, 1954, **25**, 324-355.
- LATNER (A.L.), UNGLEY (C.C.), COX (E.V.), Mc Evoy-Bowe (E.) and RAINE (L.). — Electrophoresis of human gastric juice in relation to Castle's intrinsic factor.
Brit. med. J., 1953, **1**, 467-473.
- a. LATNER (A.L.), MERRILLS (R.J.) and RAINE (L.C.D.P.). — Further observations on the isolation and chemical composition of Castle's intrinsic factor (abstr.).
Biochem. J., 1954, **57**, 19 p.
- b. LATNER (A.L.), MERRILLS (R.J.) and RAINE (L.C.D.P.). — Isolation of Castle's intrinsic factor (letter to the Editor).
Lancet, 1954, **1**, 1135.
- LATNER (A.L.), MERRILLS (R.J.) and RAINE (L.). — Preparation of highly potent intrinsic factor mucoprotein.
Bioch. J., 1956, **63**, 501-507.

- LATNER (A.L.) and MERRILLS (R.J.). — Further observations related to the isolation of intrinsic factor mucoprotein.
Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor. 1^{er} Symp. europ., Hambourg, 1956, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1957, 201-205.
- LATNER (A.L.), GREEN (C.) and RAINE (L.C.D.P.). — Observations related to the uptake and absorption of vitamin B₁₂ (abstr.).
Congrès international de biochimie, 4^e, Vienne, 1958, vol. 15, p. 96.
- LAUNAY (Cl.) et BERNARD (J.). — Anémie mégaloblastique grave due au lait de chèvre, Echec de la vitamine B₁₂. Guérison par l'acide folique.
Arch. franç. Pédiatr., 1951, **8**, 90-92.
- LEIKIN (S.L.). — Pernicious anemia in childhood.
Pediatrics, 1960, **25**, 91-100.
- LI (J.G.), METTIER (S.R.), HARPER (H.A.) and Mc BRIDE (A.). — Pernicious anemia due to the presence of intrinsic factor inhibitor diagnosed in childhood, with a 25 years follow up (abstr.).
Clin. Res., 1959, **7**, 90-91.
- LUUBY (A.L.), COOPERMAN (J.M.), DONNENFIELD (A.M.), HERRERO (J.M.), TELLER (D.N.) and WENIG (J.B.). — Observations on transfer of vitamin B₁₂ from other to fetus and newborn (abstr.).
J. Dis. Child., 1958, **96**, 532-533.
- Mc DONALD (R.M.), INGELFINGER (F.J.) and BELDING (H.W.). — Late effects of total gastrectomy in man.
New Engl. J. Med., 1947, **237**, 887-896.
- Mc LEAN (L.D.). — Incidence of megaloblastic anemia after subtotal gastrectomy.
New England J. Med., 1957, **257**, 262-265.
- Mc NICOL (G.B.). — Thyreotoxicosis associated with pernicious anemia.
Amer. J. med. Sci., 1961, **241**, 336-342.
- MAGNUS (H.A.) and UNGLEY (C.C.). — Gastric lesion in pernicious anaemia.
Lancet, 1938, **1**, 420-421.
- Malabsorptions d'origine intestinale.
Rev. Prat. (Paris), 1965, **15**, 503-630.
- MARSCHALL CHALMERS (J.N.) and BOHEIMER (K.). — Megaloblastic anaemia and anticonvulsant therapy.
Lancet, 1954, **2**, 920-921.
- MICHON (P.), BURG (C.), LARCAN (A.), STREIFF (F.), MICHAUD (C.). — Applications du test de Schilling en hématologie (A propos de 29 déterminations).
Ann. Méd. Nancy, 1962, **87**, 339-346.
- MILLER (O.N.). — Determination of bound vitamin B₁₂.
Arch. Biochem., 1957, **68**, 255-262.
- MILLER (O.N.) and HUNTER (F.M.). — Effect of intrinsic factor concentrates on vitamin B₁₂ receptor protein of tissues.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1958, **97**, 863-867.
- MINARD (F.N.) and WAGNER (C.L.). — « In vitro » assay of hog intrinsic factor with rat liver homogenates.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1958, **98**, 684-686.
- MINOT (G.R.) and MURPHY (W.P.). — Treatment of pernicious anemia by a special diet.
J. Amer. med. Assoc., 1926, **87**, 470-476.
- MINOT (G.R.) and CASTLE (W.B.). — The interpretation of reticulocyte reactions: their value in determining the potency of therapeutic materials, especially in pernicious anemia.
Lancet, 1935, **2**, 319-330.

- MOLLIN (D.L.) and ROSS (G.I.M.). — The vitamin B₁₂ concentrations of serum urine of normals and of patients with megaloblastic anaemias and other diseases.
J. clin. Path., 1952, **5**, 129-139.
- a. MOLLIN (D.L.), BAKER (S.J.) and DONIACH (I.). — Addisonian pernicious anaemia with gastric atrophy in a young man.
Brit. J. Haemat., 1955, **1**, 278-290.
- b. MOLLIN (D.L.), BAKER (S.J.) and DONIACH (I.). — Addisonian pernicious anemia without gastric atrophy in young man.
Brit. J. Haemat., 1955, **1**, 278-290.
- MOREL (P.), PAYEN (G.), CREYSSSEL (R.) et CROISAT (P.). — Etude de la lignée érythropoïétique dans le myélogramme de l'anémie de Biermer.
Rev. Lyon. Méd., 1955, **4**, 229-331.
- a. NABET (P.). — Contribution à l'étude du Facteur intrinsèque dans le suc gastrique humain (Dosage, Nature, Physiologie, Pathologie).
Nancy, imp. G. Thomas, 110 p. (Thèse méd. Nancy, 1961-1962).
- b. NABET (P.). — A propos de la thermolabilité du facteur intrinsèque.
Bull. Soc. Chim. biol. (Paris), 1962, **44**, 1013-1019.
- c. NABET (P.). — Sur la présence d'inhibiteurs du facteur intrinsèque dans certains sucs gastriques.
C.R. Soc. Biol. (Paris), 1962, **156**, 138-141.
- NABET (P.), WOLFF (R.) et BESANÇON (F.). — La sécrétion du facteur intrinsèque au cours du cancer de l'estomac.
Arch. Mal. Appar. dig., 1964, **53**, 679-684.
- a. NYBERG (W.), SAARNI (M.), GOTHONI (G.) and JARVENTIE (G.). — The influence of *Diphyllobotrium latum* on the complex formed between the vitamin B₁₂ binding principle in human gastric juice and Co 60 - B₁₂.
Acta med. scand., 1961, **170**, 257-262.
- b. NYBERG (W.), WOLFF (R.) et NABET (P.). — Action d'un extrait de *Diphyllobotrium latum* sur la vitamine B₁₂ combinée.
C.R. Soc. Biol. (Paris), 1962, **156**, 1672-1675.
- OKUDA (K.), GRASBECK (R.) and CHOW (B.F.). — Bile and vitamine B₁₂ absorption.
J. Lab. clin. Med., 1958, **51**, 17-23.
- OKUDA (K.). — Mucosal adsorption and absorption of vitamin B₁₂ in the intestine of the rat.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1962, **111**, 320-323.
- PAULSON (M.) and HARVEY (J.C.). — Hemotological alterations after total gastrectomy.
J. Amer. med. Ass., 1954, **156**, 1556-1560.
- PIERONI (R.R.), ROZENBOJM (J.), SCHNAIDER (J.), KURBAN (S.) and KUSMINSKY (N.). — Absorção Intestinal da Vitamina B₁₂ (Co 60) em gastrectomizados.
Comissão National Energia Nuclear Publicação, 1959, IE A. N., **1**, 3-16.
- POHL (C.). — Über perniziöse Anämie im Kindesalter.
Msschr. Kinderheilk., 1940, **84**, 192.
- PRUSOFF (W.H.), WELCH (A.D.), HEINLE (R.W.) and MEACHAM (G.C.). — Concentration of intrinsic factor and vitamin B₁₂ binding activities of fractions of desicated hog stomach,
Blood, 1953, **8**, 491-501.

- a. REIZENSTEIN (P.G.). — Vitamin B₁₂ metabolism: Some studies on the absorption, excretion, enterohepatic circulation, turnover rate, body distribution and tissue-binding of B₁₂.
Acta med. scand., 1959, **165**, suppl. **347**, 1-31.
- b. REIZENSTEIN (P.G.). — Excretion, enterohepatic circulation and retention of radiovitamin B₁₂ in pernicious anemia and in controls.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1959, **101**, 703-707.
- REIZENSTEIN (P.G.), CRONKITE (E.P.) and COHN (S.H.). — Measurement of absorption of vitamin B₁₂ by whole-body gamma spectrometry.
Blood, 1961, **18**, 95-101.
- a. REIZENSTEIN (P.G.), PRICE (D.C.), COHN (S.H.), CRONKITE (E.P.) and WASSERMAN (L.R.). — Whole-body counter studies of the absorption and turnover of iron and vitamin B₁₂.
7^e Congr. Europ. Soc. Hématol., Vienne, 1962, Edit. S. KARGER, Bâle (rapports), 1962, p. 237.
- b. REIZENSTEIN (P.), CRONKITE (E.P.) and COHN (S.H.). — Plasma clearance and whole body turnover of injected and absorbed radiovitamin B₁₂ in man.
Personnal communication, 1962; in GLASS (G.B.J.), *Physiol. Rev.*, 1963, **43**, 659.
- RHODES (M.B.), FEENEY (R.E.) and MILLER (O.N.). — Fractions with high activity for intrinsic factor and combining vitamin B₁₂ with receptor substances.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1959, **101**, 70-73.
- RICHMOND (V.), CAPUTTO (R.) and WOLF (S.). — Biochemical study of the large molecular constituents of gastric juice.
Gastroenterology, 1955, **29**, 1017-1021.
- RICKES (E.L.), BRINK (N.G.), KONIUSZY (F.R.), WOOD (T.R.) and FOLKERS (K.). — Crystalline vitamin B₁₂.
Science, 1948, **107**, 396-397.
- ROSENBLUM (C.). — Radiation comparison of cobalt isotopes.
Amer. J. clin. Nutr., 1960, **8**, 276-282.
- ROSENTHAL (H.L.) and SARRET (H.P.). — Determination of vitamin B₁₂ activity in human serum.
J. biol. Chem., 1952, **199**, 433-442.
- ROSENTHAL (H.L.) and AUSTIN (S.). — Vitamin B₁₂ unsaturated binding capacity of sera from various animals.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1962, **109**, 179-181.
- SCHILLING (R.F.). — Intrinsic factor studies. II - The effect of gastric juice on the urinary excretion of radioactivity after the oral administration of radioactive vitamin B₁₂.
J. Lab. clin. Med., 1953, **42**, 860-866.
- SCHWARTZ (M.). — Intrinsic-factor-inhibiting substance in serum of orally treated patients with pernicious anaemia.
Lancet, 1958, **2**, 61-62.
- SCHWARTZ (M.). — Intrinsic factor antibody in serum from patients with pernicious anaemia.
Lancet, 1960, **2**, 1263-1267.
- SIURALA (M.). — Gastric lesion in some megaloblastic anemias. Results of follow-up examinations.
Acta med. scand., 1956, **154**, 337-348.
- SIURALA (M.) and NYBERG (W.). — Vitamin B₁₂ absorption in atrophic gastritis.
Acta med. scand., 1957, **157**, 435-443.

- SIURALA (M.) and SEPPALA (K.). — Atrophic gastritis as a possible precursor of gastric carcinoma and pernicious anemia: results of follow-up examinations.
Acta med. scand., 1960, **166**, 455-474.
- SMITH (E.L.). — Purification of anti-pernicious anemia factors from liver.
Nature, 1948, **161**, 638-639.
- STRAUSS (E.W.) and WILSON (T.H.). — Effect of intrinsic factor on vitamin B₁₂ uptake by rat intestine « in vitro ».
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1958, **99**, 224-226.
- STRAUSS (E.W.) and WILSON (T.H.). — Species differences in the intrinsic factor stimulation of B₁₂ uptake by small intestine « in vitro » (abstr.).
Fed. Proc., 1959, **18**, 333.
- STRAUSS (E.W.), WILSON (T.H.) and HOTCHKISS (A.). — Factors controlling B₁₂ uptake by intestinal sacs « in vitro ».
Amer. J. Physiol., 1960, **198**, 103-107.
- SWENSEID (M.E.), HALSTED (J.A.) and LIBBY (R.L.). — Excretion of cobalt 60 labeled vitamin B₁₂ after total gastrectomy.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1953, **83**, 226-228.
- TAYLOR (K.B.) and MORTON (J.A.). — An antibody to Castle's intrinsic factor.
Lancet, 1958, **1**, 29-30.
- TAYLOR (K.B.). — Inhibition of intrinsic factor by pernicious anaemia sera.
Lancet, 1959, **2**, 106-108.
- TAYLOR (W.H.), MALLETT (B.J.) and TAYLOR (K.B.). — Intrinsic factor: Active and inhibitory components from the mitochondria of human gastric mucosal cells.
Biochem. J., 1961, **80**, 342-348.
- TAYLOR (K.B.), ROITT (I.M.), DONIACH (D.), COUCHMAN (K.G.) and SHAPLAND (C.). — Autoimmune phenomena in pernicious anaemia: gastric antibodies.
Brit. med. J., 1962, **2**, 1347-1352.
- TERNBERG (J.L.) and EAKIN (R.E.). — Erythrin and apoerythrin and their relation to anti-pernicious anemia principle.
J. Amer. chem. Soc., 1949, **71**, 38-58.
- TOWNSEND (S.F.). — Regeneration of gastric mucosa in rats.
Amer. J. Anat., 1961, **109**, 133-147.
- TUDHOPE (G.R.) and WILSON (G.M.). — Anaemia in hypothyroidism - Incidence, pathogenesis and response to treatment.
Quart. J. Med., 1960, **29**, 513-537.
- TUDHOPE (G.R.) and WILSON (G.M.). — Deficiency of vitamin B₁₂ in hypothyroidism.
Lancet, 1962, **1**, 703-706.
- United States Pharmacopoeia Anti-Anemia Preparations Advisory Board. Anti-Anemia Preparations: Directions for the submission of data by manufacturers.
July, 1st, 1948.
- VUILLEMIN-WEISS (J.). — L'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ chez le rat.
Thèse Sci., Nancy, 1957, 161 p., Dactylogr.
- WELCH (A.D.), NICHOL (C.A.) and CLEMENT (D.H.). — A case of juvenile pernicious anemia: study of the effects of folic acid and vitamin B₁₂.

- Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor. 2^e Symp. europ., Hambourg, 1961, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1962, 761-763.
- WELCH (J.D.), HARTZOG (J.T.), ROHRER (G.V.) and RUSSELL (L.). — Chromatographic fractionation, B₁₂ binding material and intrinsic factor (abstr.).
Clin. Res., 1962, **10**, 294.
- WELCH (J.D.), HARTZOG (J.T.), ROHRER (G.V.), RUSSEL (L.) and WOLF (S.). — Chromatographic separation of human gastric juice: Electrophoretic characterization, B₁₂ binding capacity, and intrinsic factor activity of the various fractions.
Gastroenterology, 1963, **45**, 215-228.
- WILLIAMS (E.D.) and DONTACH (I.). — The post-mortem incidence of focal thyroiditis.
J. Bath. Bact., 1962, **83**, 255-264.
- WILLIAMS (W.L.), ELLENBOGEN (L.) and ESPOSITO (R.G.). — Preparation of highly purified intrinsic factor.
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), 1954, **87**, 400-405.
- WILLIAMS (W.L.) and ELLENBOGEN (L.). — Purification and assay of intrinsic factor.
Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor. 1^{er} Symp. europ., Hambourg, 1956, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1957, 206-213.
- WIPPLE (G.H.). — Pigment metabolism and regeneration of hemoglobin in body.
Arch. intern. Med., 1922, **29**, 711-731.
- WOLFF (R.) et KARLIN (R.). — Sur la combinaison du sérum de quelques mammifères avec la vitamine B₁₂.
Bull. Soc. Chim. biol. (Paris), 1953, **35**, 1409-1413.
- a. WOLFF (R.) et BESANÇON (F.). — L'avitaminose B₁₂ dans l'anémie pernicieuse.
Sem. Hôp. Paris, 1955, **31**, 2098-2103.
- b. WOLFF (R.), KARLIN (R.) et PAYSANT (P.). — A propos du dosage microbiologique de la vitamine B₁₂ dans le sérum.
Bull. Soc. Chim. biol. (Paris), 1955, **37**, 735-738.
- c. WOLFF (R.) et VUILLEMIN-WEISS (J.). — Rôle possible du suc gastrique dans la protection de la vitamine B₁₂ contre une destruction par voie chimique.
Rev. Hématol., 1955, **10**, 202-205.
- WOLFF (R.) and VUILLEMIN-WEISS (J.). — The mode of action of intrinsic factor in vitamin B₁₂ absorption by rat intestine.
Amer. J. clin. Nutr., 1960, **8**, 293-294.
- a. WOLFF (R.), CUNY (G.) et NABET (P.). — Le taux du facteur intrinsèque dans le suc gastrique des sujets âgés.
Rev. franç. Gériat., 1961, **7**, 547-548.
- b. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Nouvelle méthode de dosage du facteur intrinsèque dans le suc gastrique humain.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 1961, **252**, 2473-2474.
- c. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Diagnostic de l'anémie de Biermer.
5^e Congr. intern. Biochim., Moscou, 1961 (abstr.), p. 228.
- d. WOLFF (R.) et NABET (P.). — La recherche du facteur intrinsèque dans le suc gastrique chez les sujets normaux et chez les sujets atteints d'anémie de Biermer.
C.R. Acad. Méd., 1961, **145**, 150-157.

- a. WOLFF (R.) et NABET (P.). — A new method for the biological determination of intrinsic factor activity in human gastric juice. Results obtained in normals and in pernicious anemia patients. Vitamin B₁₂ und Intrinsic Factor. 2^e Symp. europ., Hambourg, 1961, Edit. F. ENKE, Stuttgart, 1962, 514-520.
- b. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Activité en facteur intrinsèque du suc gastrique humain et porcine, et d'extraits purifiés de muqueuse gastrique de l'homme et du porc. Effets de la pepsine et de la trypsine. *Bull. Soc. Chim. biol.* (Paris), 1962, **44**, 855-865.
- c. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Sur la conservation de l'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique humain. *C.R. Soc. Biol.* (Paris), 1962, **151**, 308-311.
- d. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Action de la neuraminidase sur l'activité « facteur intrinsèque » de l'extrait purifié de muqueuse gastrique chez l'homme. *Bull. Soc. Chim. biol.* (Paris), 1962, **44**, 1009-1012.
- e. WOLFF (R.), RAUBER (G.), NABET (P.) et ROYER (P.). — Recherches sur le Facteur intrinsèque du suc gastrique dans la gastrite atrophique de l'achlorhydrie. *Arch. Mal. Appar. dig.*, 1962, **51**, 598-605.
- a. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Rôle antigénique à l'égard du lapin, du facteur intrinsèque contenu dans l'extrait de muqueuse gastrique de porc. *Bull. Soc. Chim. biol.* (Paris), 1963, **45**, 623-629.
- b. WOLFF (R.), RAUBER (G.), NABET (P.) et ROYER (P.). — Le dosage du facteur intrinsèque dans les gastrites chroniques. 2^e Congr. Mondial de Gastroentérologie, Munich, 1962, Edit. S. KARGER, Bâle, 1963, 247-251.
- a. WOLFF (R.) et NABET (P.). — L'absorption de la vitamine B₁₂ par l'intestin isolé de cobaye en l'absence de facteur intrinsèque. Mécanisme d'action. *Bull. Soc. Chim. biol.* (Paris), 1964, **46**, 717-728.
- b. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Méthode immunologique de dosage du facteur intrinsèque. Comparaison avec le test de Schilling. *Bull. Soc. Chim. biol.* (Paris), 1964, **46**, 225-226.
- WOLFF (R.) et NABET (P.). — Note technique - Recherche du facteur intrinsèque dans le suc gastrique. *Nouv. Rev. franç. Et. Clin. Biol.*, 1965, sous presse.
- WOLFF (R.), NABET (P.) et BERTHEAU (M.F.). — Etude de l'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique en pathologie. *Presse Médicale*, sous presse.
- WOLFF (R.), NABET (P.) et Mlle JAMAIN (M.C.). — Obtention par hydrolyse enzymatique de substances dialysables douées d'une activité en facteur intrinsèque chez le cobaye. *C.R. Acad. Sc.* (Paris), 1965, sous presse.
- WOLFF (R.). — Comparaison entre le test de Schilling et le test clinique à l'intestin de cobaye. 1965 (à paraître).
- WRIGHT (L.), SKEGGS (H.) and HUFF (J.). — Ability of thymidine to replace vitamin B₁₂ as growth factor for certain lacto-bacilli. *J. biol. Chem.*, 1948, **175**, 475-476.
- WRUBLE (L.D.), COLE (G.W.), LESSNER (H.F.), HAIDRI (S.Z.H.) and KALSER (M.H.). — Evidence for the fundic origin of intrinsic factor. *Ann. intern. Med.*, 1964, **60**, 877-881.
-

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	1
HISTORIQUE: La notion du Facteur Intrinsèque	3
PROPRIÉTÉS	7
TECHNIQUES D'ÉTUDE	29
VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES ET PATHOLOGIQUES	55
VUE D'ENSEMBLE SUR LES RÉSULTATS OBTENUS	109
CONCLUSIONS	115
BIBLIOGRAPHIE	119

VU:

Nancy, le 10 juin 1965.

Le Président de Thèse,

Pr. WOLFF.

VU ET APPROUVÉ:

Nancy, le 17 juin 1965.

Pour le Doyen, l'Assesseur,

Pr. ROUSSEL.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER:

Nancy, le 18 juin 1965.

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université,

P. IMBS.

Imprimerie Georges Thomas - Nancy - Dépôt légal IV-1966 - N° 713

